



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**RELAÇÃO ENTRE INFEÇÕES DO SISTEMA NERVOSO
CENTRAL E AS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS**

Trabalho submetido por

Joana Rita Martins Correia

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**RELAÇÃO ENTRE INFEÇÕES DO SISTEMA NERVOSO
CENTRAL E AS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS**

Trabalho submetido por

Joana Rita Martins Correia

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Prof. Doutor Alexandre Quintas

outubro de 2016

“Matar o sonho é matarmo- nos. É mutilar a nossa alma. O sonho é o que temos de realmente nosso, de impenetravelmente e inexpugnavelmente nosso.”

Fernando Pessoa

Agradecimentos

A todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização desta dissertação os meus sinceros agradecimentos.

Ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, por me ter acolhido durante estes 5 anos, por tudo o que me proporcionou e me fez vivenciar ao longo do meu percurso académico.

A todos os professores que, ao longo do curso, me acompanharam e contribuíram para o meu crescimento, tanto a nível profissional como pessoal. Em especial, agradeço ao meu orientador, Prof. Doutor Alexandre Quintas, por todo o empenho, orientação e dedicação que demonstrou na realização deste trabalho.

Aos meus amigos, pela sua amizade, companheirismo, lealdade e por todos os momentos que partilhamos. Em particular, à Mafalda Miranda, por estar presente desde o primeiro instante, por todas as aventuras e por todos os momentos partilhados. À Fátima Evangelista, pela sua amizade, conselhos e por estar sempre presente. Ao Diogo Leitão, por me fazer rir. Ao meu grupo de companheiras das aventuras, que levo comigo para a vida.

Ao Ivan, pelo apoio, força, paciência e ajuda nos momentos mais difíceis e por todo o seu amor e carinho.

E, por último, mas o mais importante. Agradeço do fundo do coração a toda a minha família, principalmente aos meus pais, por todo o seu apoio incondicional, educação, paciência e carinho que demonstraram ao longo dos últimos 23 anos. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, por serem o meu pilar e por se orgulharem de mim. Sem vocês seria impossível chegar até aqui!

A todos, o meu eterno obrigado.

Resumo

As doenças neurodegenerativas são doenças crônicas de caráter degenerativo que se caracterizam pela disfunção e perda progressiva de neurónios no sistema nervoso central (SNC). Estas patologias afetam cerca de 37 milhões de pessoas em todo o mundo e a tendência é crescente. Estima-se que o número de indivíduos com algum tipo de neurodegenerescência duplique a cada 20 anos, o que faz com que as doenças neurodegenerativas sejam consideradas uma das maiores preocupações da comunidade científica e da sociedade em geral. A doença de Alzheimer, a doença de Parkinson e a esclerose múltipla são alguns exemplos das inúmeras doenças existentes que apresentam um foro neurodegenerativo. Apesar de toda a investigação e pesquisa de que têm sido alvo, a etiologia e os mecanismos neuropatológicos subjacentes a estas doenças continuam por compreender. Recentemente, através de várias evidências epidemiológicas, experimentais e estudos emergentes surge mais uma hipótese que tenta explicar a etiologia destas patologias que aponta para um possível envolvimento de agentes infecciosos na patogénese e/ou progressão dos processos neurodegenerativos. É proposto que determinados agentes infecciosos detêm a capacidade de entrar no SNC e de estabelecer uma infeção crónica que conduz à danificação progressiva da viabilidade neuronal. Os agentes infecciosos, quando presentes no SNC, são responsáveis por desencadear uma série de eventos neurotóxicos que parecem ser cumulativos ao longo do tempo e com o avanço da idade. Concomitantemente os fatores genéticos e/ou ambientais concorrem para gerar, amplificar e/ou acelerar o processo neurodegenerativo. São cada vez mais as evidências que suportam esta hipótese. Na verdade, estudos recentes sugerem que os agentes infecciosos são capazes de produzir marcas moleculares patogénicas típicas da neurodegenerescência, nomeadamente a formação e a deposição de proteínas *misfolded*, disfunção mitocondrial e sináptica, *stress* oxidativo, processos autofágicos deficientes e neuroinflamação. Contudo, esta associação ainda é controversa e a grande parte das correlações entre os agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas não estão comprovadas.

Palavras-chave: doenças neurodegenerativas; agentes infecciosos; neurodegenerescência; sistema nervoso central.

Abstract

Neurodegenerative diseases are chronic diseases with a degenerative character that are characterized by dysfunction and progressive loss of neurons in the central nervous system (CNS). These disorders affect about 37 million people all over the world, following an upwards tendency. It's estimated that the number of people with some kind of neurodegeneration double every 20 years, which makes neurodegenerative diseases a major concern of the scientific community and society in general. Alzheimer's disease, Parkinson's disease and multiple sclerosis are some examples of the numerous existing diseases that have a neurodegenerative disorder. Despite all the investigation and research that has been targeting these diseases, the etiology and the underlying neuropathological mechanisms still need understanding. Recently, through various epidemiological, experimental and emerging studies, arises another hypothesis that tries to explain the etiology of these diseases. This hypothesis points towards a possible role of infectious agents in the pathogenesis and/or progression of neurodegenerative processes. It's proposed that certain infectious agents retain the ability to enter in the CNS and establish a chronic infection that leads to a progressive damage of neuronal viability. The infectious agents, when present in the CNS, are responsible for causing a number of neurotoxic events that appear to be cumulative over time and with the advancing age. Concomitantly genetic factors and/or environmental ones contribute to generate, amplify and/or accelerate the neurodegenerative process. There are more and more evidence supporting this hypothesis. In fact, recent studies suggest that infectious agents are capable of producing typical pathogenic molecular markers of neurodegeneration, especially the formation and deposition of *misfolded* proteins, mitochondrial and synaptic dysfunction, oxidative *stress*, disabled autophagic processes and neuroinflammation. However, this association is still controversial and many of the correlations between infectious agents and neurodegenerative diseases are still unproven.

Keywords: neurodegenerative diseases; infectious agents; neurodegeneration; central nervous system.

Índice Geral	
Resumo	1
Abstract	3
Índice Geral	5
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas	9
Índice de Abreviaturas	11
1. Introdução	13
2. Metodologia	17
3. Doenças Neurodegenerativas	19
3.1 Epidemiologia em Portugal e no Mundo e consequente Impacto Sócio-Económico	21
3.2 Fatores de risco envolvidos nas Doenças Neurodegenerativas	23
3.2.1 Alterações fisiológicas do Sistema Nervoso Central e o envelhecimento	23
3.2.2 Fatores genéticos	25
3.2.3 Fatores ambientais	29
3.3 Mecanismos implicados no desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas ...	33
3.3.1 Misfolding Proteico e as Doenças Neurodegenerativas	33
3.3.2 Stress Oxidativo e a formação de radicais livres	35
3.3.3 Neuroinflamação e as Doenças Neurodegenerativas	37
3.4 Doença de Alzheimer	40
3.5 Doença de Parkinson	47
3.6 Esclerose Múltipla	50
4. Agentes Infeciosos e as Doenças Neurodegenerativas	53
4.1 Mecanismos de Neuroinvasão	55
4.2 Doença do Alzheimer e o Herpesvírus Simples 1 (HSV-1)	59
4.3 Chlamydomphila pneumoniae e a doença de Alzheimer	63
4.4 Vírus Influenza e a doença de Parkinson	66
4.5 Doença de Parkinson e a Helicobacter pylori	69
4.6 Esclerose múltipla e o herpesvírus humano 6, vírus Epstein-Barr e o vírus Varicela- Zoster	72
4.7 Outros agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas	74
4.8 Possíveis mecanismos envolvidos na neurodegenerescência relacionados com infeções do SNC	75
Conclusão	79
Referências Bibliográficas	81

Índice de Figuras

Figura 1 - Modelo de proteínas <i>misfolded</i> e agregação fibrilar que leva a deposição de agregados proteicos intra e extracelulares. Adaptado de (Saadallah, 2013)	35
Figura 2- Consequências da neuroinflamação crônica. (A) Quando há um estímulo contínuo e a resposta inflamatória não é resolvida, as células da glia produzem ininterruptamente mediadores pró-inflamatórios (IL-6, IL-1 α , TNF- α) e ROS (NO, H ₂ O ₂). (B) A produção excessiva de mediadores pró- inflamatórios e ROS pode conduzir à neurodegenerescência. Adaptado de (Campbell, 2004).....	39
Figura 3- Neuropatologia da doença de Alzheimer. (A) Placa neurítica com núcleo amilóide (seta) corado com hematoxilina-eosina, 400x. (B) Placa neurítica marcada com anticorpo anti- A β . Núcleo amilóide (seta) rodeado por proteína A β – 100x. (C) e (D) Entrançados neurofibrilares marcados imunologicamente com anticorpo da proteína tau- 100x /200x. (Taipa <i>et al.</i> , 2012)	41
Figura 4- Processo de proteólise da proteína precursora amilóide (PPA) e formação da proteína β - amilóide (A β). Adaptado de (Kim <i>et al.</i> , 2012)......	44
Figura 5- Formação de entrançados neurofibrilares a partir da proteína tau e a consequente destabilização dos microtúbulos. Adaptado de (Brunden, Trojanowski, & Lee, 2009)......	45
Figura 6- Neuropatologia da doença de Parkinson. (A) Corpo de Lewy (seta) num neurónio da SNpc, no hipocampo (B), e no córtex (C) – coloração hematoxilina-eosina 400x. (D) Corpo de Lewy (seta) e neurite de Lewy (cabeça da seta) na SNpc. (E) e (F) Corpos de Lewy no córtex cerebral.(D-F) Marcados imunologicamente com anticorpo da proteína α -sinucleína, 400x. (Taipa <i>et al.</i> , 2012).....	47
Figura 7- Mecanismos adotados pelos agentes infecciosos de forma a alcançarem o SNC. Adaptado de (De Chiara <i>et al.</i> , 2012)......	58

Figura 8- Mecanismo neuroinflamatório mediado por microrganismos infecciosos.

(A) Fatores desencadeadores das doenças neurodegenerativas. **(B)** Neuroinvasão e neuroinflamação mediada por agentes infecciosos. Adaptado de (Deleidi & Isacson, 2012).

..... 77

Índice de Tabelas

Tabela 1- Formas hereditárias monogénicas de Doença de Parkinson. Adaptado de (Massano, 2011; Wirdefeldt *et al.*, 2011)..... 28

Tabela 2- Outros agentes infecciosos que possivelmente estão envolvidos na patogénese das doenças neurodegenerativas. Adaptado de (De Chiara *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2015; Mattson, 2004; Garth L Nicolson & Haier, 2009; Zhou *et al.*, 2013). 74

Índice de Abreviaturas

APOE	Apolipoproteína E
ATP	Adenosina trifosfato
A β ₄₀	Péptido β -amilóide com 40 aminoácidos
A β ₄₂	Péptido β -amilóide com 42 aminoácidos
A β	β -amilóide
BACE 1	local β da enzima 1 de clivagem da PPA
BHE	Barreira hematoencefálica
DA	Doença de Alzheimer
DH	Doença de Huntington
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Doença de Parkinson
EBNA	Antigénio nuclear do vírus Epstein-Barr
ELA	Esclerose lateral amiotrófica
EM	Esclerose múltipla
EMSR	Esclerose múltipla surto-remissiva
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GSH	Glutationa
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogénio
HHV-6	Herpesvírus humano do tipo 6
HVS-1	Herpesvírus simples do tipo 1
IFNs	Interferões
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1 α	Interleucina 1 α
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
L-dopa	Levodopa
LCR	Líquido cefalorraquidiano
miRNA	Micro-ácido ribonucleico

MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
NO	Óxido nítrico
NPs	Nanopartículas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PPA	Proteína Percursora Amilóide
RNA	Ácido Ribonucleico
RNS	Espécies Reativas de Azoto
ROS	Espécies Reativas de Oxigénio
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SNpc	<i>Substantia nigra pars compacta</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
VCA	Antigénio da Cápside do Vírus
VEB	Vírus Epstein-Barr
VVZ	Vírus Varicela-Zoster

1. Introdução

Ao longo dos anos tem-se presenciado uma intensa mudança na estrutura etária da população a nível mundial. Mudança essa, expressa por um aumento alarmante da proporção de pessoas com mais de 65 anos associada a um declínio progressivo da população jovem. Na génese desta alteração demográfica estão o aumento da esperança média de vida, a diminuição acentuada da taxa de mortalidade e o declínio dos níveis de fertilidade. Todos estes fatores parecem contribuir para o envelhecimento global da população.

Por um lado, o prolongamento da vida, isto é, o aumento da esperança média de vida é uma aspiração de qualquer sociedade, todavia, esta só pode ser entendida como uma conquista quando acompanhada com qualidade de vida nos anos adicionais. Porém, inúmeros dados incluindo os da Organização Mundial de Saúde (OMS), sugerem numerosas implicações na área da saúde associadas com o aumento da esperança média de vida e do índice de envelhecimento. Em particular, é visível um crescimento preocupante das patologias de evolução prolongada associadas à idade, como as doenças do foro neurodegenerativo. O avanço da idade é um dos fatores de risco mais significativos para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas e, parece que a sua incidência e prevalência aumenta de forma quase exponencial com a idade. Visto que há uma tendência global crescente do fenómeno de envelhecimento, a OMS estima que o número de pessoas com algum tipo de neurodegenerescência duplique a cada 20 anos, o que faz com que as doenças neurodegenerativas, atualmente, sejam umas das preocupações fulcrais da comunidade científica e da sociedade em geral (Santana, Farinha, Freitas, Rodrigues, & Carvalho, 2015; World Health Organization, 2012).

As doenças neurodegenerativas, como por exemplo, a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP), a doença de Huntington (DH), a esclerose lateral amiotrófica (ELA) e a esclerose múltipla (EM), entre outras, são doenças devastadoras caracterizadas pela disfunção e deterioração crónica do sistema nervoso central. Estas doenças compreendem um conjunto de distúrbios neurológicos com uma expressão anatomopatológica e clínica bastante distinta. Contudo, todas parecem afetar a unidade base do sistema nervoso, os neurónios, apesar de cada uma atingir um sistema anatómico funcional específico, que irá conduzir a alterações cognitivas, motoras e funcionais heterogéneas (Przedborski, Vila, & Jackson-lewis, 2003).

Apesar do esforço despendido na investigação sobre doenças neurodegenerativas, a etiologia destas ainda não é totalmente conhecida. É cada vez mais consensual que a gênese destas patologias contempla uma natureza multifatorial; por outras palavras, acredita-se que o desenvolvimento de doenças do foro neurodegenerativo é devido a uma determinada predisposição genética aliada com a exposição a certos fatores ambientais, juntamente com o avanço da idade. Os mecanismos moleculares e fisiopatológicos subjacentes ao surgimento de neurodegenerescência também não estão completamente esclarecidos, no entanto, as diferentes doenças de caráter neurodegenerativo parecem partilhar marcas e processos intracelulares neuropatológicos, como a formação e a deposição de proteínas anómalas, o *stress* oxidativo e a consequente produção exacerbada de radicais livres, disfunções sinápticas e mitocondriais, um mecanismo autofágico deficiente e processos neuroinflamatórios.

Nos últimos anos, um crescente número de literatura baseada em estudos emergentes e pesquisas epidemiológicas e experimentais, sugerem a hipótese de que certas infecções do SNC podem desempenhar um papel crítico no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Embora ainda controversa e a maior parte das correlações entre os agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas não estarem completamente comprovadas, cada vez são mais os estudos e as subseqüentes evidências que sugerem a possibilidade de que a exposição a uma determinada infecção crónica de origem bacteriana, viral, protozoária, entre outras, pode ser um fator, ou pelo menos, um cofator de risco para o aparecimento de diferentes patologias neurodegenerativas (De Chiara et al., 2012; Mattson, 2004; Nicolson & Haier, 2009; Zhou, Miranda-Saksena, & Saksena, 2013).

Determinados microrganismos desenvolveram estratégias de forma a alcançarem o SNC e lá, detêm a capacidade de causar infecções agudas que por um lado, podem ser fatais, ou então podem progressivamente conduzir ao surgimento de patologias crónicas através da danificação da viabilidade neurológica. Para além disso, existem algumas evidências que os microrganismos neurotrópicos podem interferir e/ou gerar marcas moleculares patogénicas intracelulares características da neurodegenerescência, nomeadamente a formação e a deposição de proteínas *misfolded*, disfunção mitocondrial e sináptica, *stress* oxidativo, um processo autofágico deficiente e neuroinflamação (De Chiara et al., 2012; Zhou et al., 2013). É proposto assim, que a contração de infecções no passado ou a exposição às mesmas numa idade avançada, concomitante com uma predisposição genética e outros fatores ambientais, possam desencadear diversos mecanismos que

conduzem ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (De Chiara et al., 2012; Mattson, 2004; Nicolson & Haier, 2009). O objectivo desta monografia é então, compreender a relação entre as infeções do SNC e as doenças neurodegenerativas, através das evidências presentes na literatura, assim como elucidar os possíveis mecanismos patológicos utilizados por certos agentes infecciosos neurotrópicos que contribuem para o desenvolvimento das doenças neurodegenerativas. Esta dissertação foca-se nas seguintes relações: a doença de Alzheimer e o herpesvírus humano simples 1 (HSV-1); a *Chlamydophila pneumoniae* e a doença de Alzheimer; o vírus Influenza e a doença de Parkinson; a *Helicobacter pylori* e a doença de Parkinson e relação entre a esclerose múltipla e o herpesvírus humano 6, vírus Epstein-Barr, vírus Varicela-Zóster.

2. Metodologia

A metodologia utilizada para a realização deste trabalho recaiu numa revisão bibliográfica da literatura publicada alusiva ao tema. A pesquisa bibliográfica dos artigos científicos foi sobretudo efetuada recorrendo a bases de dados eletrónicas, particularmente, através da b-on, PubMed, Google Scholar, entre outras. Neste sentido, utilizou-se determinadas palavras-chave como *neurodegenerative diseases*, *infections*, *infectious agents*, *virus*, *bacteria*, *microorganism*, *central nervous system*, *Alzheimer's disease*, *Parkinson's disease*, *multiple scleroris* articuladas entre si ou não. Devido à abundância de informação, para limitar a pesquisa foram excluídos artigos publicados em outras línguas que não, a língua inglesa ou portuguesa, assim como literatura publicada anterior ao ano 2000, excetuando alguns artigos, devido ao seu valor científico ou por serem os pioneiros na publicação de evidências relevantes e de referência nesta temática. Adicionalmente, foram consultados alguns livros na área da neurologia.

3. Doenças Neurodegenerativas

O sistema nervoso humano é o sistema mais complexo do nosso organismo contendo cerca de 100 mil milhões de células nervosas que comunicam por mais de 10 000 conexões sinápticas entre si. Este é responsável pela coordenação das ações involuntárias e voluntárias, e pela transmissão de sinais entre todos os sistemas existentes regulando assim todas as suas atividades fundamentais: sensorial, função integrativa e motora. O sistema nervoso é comumente dividido em três partes: sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso periférico (SNP) e sistema nervoso autónomo (SNA).

O sistema nervoso central contempla o cérebro e a medula espinal, enquanto o sistema nervoso periférico é constituído essencialmente por nervos, nomeadamente nervos cranianos, nervos espinais, gânglios e recetores sensoriais que se encontram fora do SNC. Estes são responsáveis pela condução dos estímulos periféricos internos e externos ao SNC assim como, também levam a informação procedida da porção central até aos órgãos efetores. O SNP pode ainda ser subdividido em duas porções, o sistema nervoso somático que inclui os nervos sensoriais e motores e o sistema nervoso autónomo (SNA) que compreende uma componente parassimpática e simpática (Rogers, 2011).

A função do sistema nervoso pode ser alterada devido a uma plethora de distúrbios que afetem o funcionamento de qualquer uma das suas estruturas resultando assim em distúrbios do movimento, memória e cognição. Um exemplo destas patologias são as doenças neurodegenerativas. Estas compreendem um vasto grupo de distúrbios neurológicos com uma expressão anatomopatológica e clínica bastante heterogénea que afetam os neurónios, geralmente num sistema anatómico funcional específico (Przedborski *et al.*, 2003). Estas doenças são caracterizadas pela sua cronicidade, destruição progressiva e irreversível das células nervosas, nomeadamente dos neurónios, levando assim a alterações cognitivas, motoras e funcionais (Amor *et al.*, 2014).

É estimado que existam algumas centenas de doenças neurodegenerativas diferentes, no entanto são mais conhecidas, do público geral, as que têm maior prevalência como por exemplo a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP), a Doença de Huntington (DH) e a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) (Przedborski *et al.*, 2003). A classificação destas doenças é um assunto controverso e desafiante devido à complexidade das mesmas. No entanto, a categorização mais utilizada é assente na característica clínica ou na topografia da lesão predominante ou até numa combinação de

ambas. Por conseguinte, as doenças neurodegenerativas podem ser classificadas primariamente de acordo com a zona do SNC que afetam: doenças do córtex cerebral, do tronco cerebral e cerebelo, da medula espinal ou doenças que envolvam os gânglios da base sendo posteriormente subdivididas de acordo com a característica clínica que se destaca (Przedborski *et al.*, 2003).

A doença neurodegenerativa que mais frequentemente cursa envolvendo o córtex cerebral é a doença de Alzheimer. Já a doença de Parkinson e a doença de Huntington são as patologias mais relevantes que envolvem a destruição de estruturas subcorticais, nomeadamente os gânglios da base. Doenças como a Ataxia de Friedreich e as Ataxias Espinho-cerebelosas (conhecidas como SCAs, *Spino Cerebellar Ataxias* na literatura anglosaxónica) afetam o tronco cerebral e o cerebelo. Por fim, exemplos de patologias neurodegenerativas que cursam com os distúrbios da medula espinal são a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) e Atrofia Muscular Espinal (Przedborski *et al.*, 2003; Rogers, 2011).

3.1 Epidemiologia em Portugal e no Mundo e consequente Impacto Sócio-Económico

O envelhecimento da população é uma das grandes problemáticas da sociedade atual tendo simultaneamente um vasto impacto a nível socioeconómico e na área da saúde. Nas últimas décadas verificou-se um aumento preocupante da proporção de pessoas com mais de 65 anos, o que está a resultar numa intensa mudança da estrutura etária da população mundial. O decréscimo da população mais jovem e consequente aumento da proporção de idosos, o aumento da esperança média de vida, o declínio acentuado da taxa de mortalidade, bem como a diminuição da fertilidade são alguns dos fatores responsáveis pelo envelhecimento da população (Santana *et al.*, 2015).

Embora os mecanismos exatos inerentes às doenças neurodegenerativas não sejam totalmente conhecidos, sabe-se que o avanço da idade é um dos fatores de risco mais relevante para o aparecimento destas. Assim, a neurodegenerescência e o envelhecimento estão intimamente ligados sendo que a sua incidência e prevalência aumentam de forma quase exponencial com a idade (Santana *et al.*, 2015).

De acordo com a OMS, em 2010, 35.6 milhões de pessoas em todo o mundo padeciam de algum tipo de demência e as projeções apontam para que este número se duplique a cada 20 anos. Estima-se que em 2050 o número de pessoas com uma doença neurodegenerativa, em que a maior expressão clínica seja a demência, ronde os 115,4 milhões (World Health Organization, 2012).

Na Europa, segundo o Parlamento Europeu, a tendência é a mesma. Estudos indicam que na Europa a cada 24 segundos um novo caso clínico envolvendo neurodegenerescência é diagnosticado. Atualmente, existem cerca de 8 milhões de pessoas com este tipo de patologia (Parlamento Europeu, 2010).

Os dados epidemiológicos demonstrados pelo Projecto Eurocode - *European Collaboration on Dementia* sugerem a existência de cerca de 153 milhares de indivíduos de cidadania portuguesa com algum tipo de neurodegenerescência (Associação Alzheimer Portugal, 2009). Estes números refletem uma tendência ascendente, pois a esperança média de vida em Portugal tem vindo a aumentar de forma consistente. O Instituto Nacional de Estatística (INE) prevê que em 2060 a esperança média de vida atinga os 84,21 anos para os homens e os 89,88 anos para as mulheres, sendo que a proporção de idosos irá rondar os 36% a 43%, com um respetivo índice de

envelhecimento de 287 e 464 idosos por cada 100 jovens (Santana *et al.*, 2015).

Para além dos números epidemiológicos assustadores, estas doenças contêm um grande impacto socioeconómico. É fácil perceber o seu carácter social visto que as doenças neurodegenerativas tratam-se de doenças debilitantes e com um avanço progressivo, sendo difícil preservar a autonomia do doente. Assim sendo, estas não só atingem o próprio como também todas as pessoas que rodeiam o doente, levando a um grande desgaste físico e emocional de todos os que lhes são próximos (Associação Alzheimer Portugal, 2009; Parlamento Europeu, 2010).

A avaliação a nível económico pode ser dividida em 3 tipos de encargos: os custos médicos diretos associados ao tratamento onde se incluem, por exemplo, os medicamentos, hospitalizações e exames clínicos; os custos indiretos que contemplam um decréscimo da produtividade laboral ou mesmo abandono, tanto do doente como de um prestador de cuidados informais, entre outros (Santana *et al.*, 2015). Os custos indiretos podem ser ainda subdivididos em custos associados a cuidadores formais ou informais. Estes, representam nos países mais desenvolvidos 85% dos encargos financeiros enquanto os custos diretos apenas representam 15%. Em 2010, os gastos que as doenças neurodegenerativas acarretam rondavam os 604 mil milhões (World Health Organization, 2012).

É assim emergente criar iniciativas e estratégias, como o rastreio e o diagnóstico precoce de forma a minimizar a progressão da doença e dos seus sintomas de forma antecipar o seu impacto (Parlamento Europeu, 2010; Santana *et al.*, 2015).

3.2 Fatores de risco envolvidos nas Doenças Neurodegenerativas

A etiologia que leva ao aparecimento das doenças neurodegenerativas ainda não é completamente clara, apesar dos inúmeros estudos e investigações efetuados ao longo das últimas décadas, que têm tido como objetivo estipular uma relação de causa-efeito para a génese destas patologias. Muito embora esta matéria seja alvo de uma grande controvérsia, a hipótese que é melhor aceite por parte da comunidade científica compreende que as doenças neurodegenerativas têm uma natureza multifatorial, ou seja, a sua etiologia prende-se a uma predisposição genética combinada com fatores ambientais. Um outro fator que parece estar intimamente envolvido no aparecimento das doenças neurodegenerativas é a idade (Lim, Rodriguez-Ortiz, & Kitazawa, 2015).

3.2.1 Alterações fisiológicas do Sistema Nervoso Central e o envelhecimento

O envelhecimento é um processo biológico natural que ocorre em todos os seres vivos. Este é caracterizado por diversas alterações fisiológicas e morfológicas em todo o organismo que levam a um declínio das funções orgânicas e da capacidade funcional do mesmo. Apesar de todos os sistemas serem afetados pelo processo de envelhecimento, o SNC é considerado como o mais comprometido. O SNC é particularmente atingido por processos de envelhecimento que conduzem a alterações funcionais, morfológicas e histológicas do cérebro bem como no sistema de neurotransmissão fruto da modificação dos processos bioquímicos celulares e moleculares inerentes a este sistema (Cancela, 2008; Hung, Chen, Hsieh, Chiou, & Kao, 2010).

Com o envelhecimento fisiológico, o SNC denota uma redução do número de neurónios bem como um declínio da velocidade de condução nervosa que resulta por exemplo na diminuição da capacidade cognitiva e da funcionalidade motora. Isto deve-se a alterações neuroanatômicas, como a atrofia cerebral caracterizada pela perda de peso e volume da massa cerebral e a degenerescência sináptica e dendrítica. Estas alterações anatómicas são uma consequência de alterações a nível molecular e celular, nomeadamente o aumento de radicais livres neurotóxicos, intrínsecas ao envelhecimento. Esses transtornos resultam no envelhecimento do cérebro, onde se observa uma atrofia neuronal e morte celular, a degenerescência grânulo-vacuolar, ao aparecimento de lipofuscinas, ao aumento de proteína amilóide com aparecimento de

placas senis e entrançados neurofibrilares assim como a mudanças no sistema de neurotransmissores (Pinto, 2010; Rommel Almeida Fechine, 2012).

A atrofia neuronal compreende a retração das células nervosas acompanhada de uma diminuição da sua capacidade funcional e de transmissão de sinais, muito provavelmente devido às modificações que estão presentes na sua citoestrutura. Em conjunto com a morte celular, a atrofia neuronal é a causa predominante que conduz às principais modificações do SNC durante o processo de envelhecimento (Scialfa & Fernie, 2006).

A degenerescência grânulo-vacuolar é determinada pela formação de vesículas na região do hipocampo. Estas vesículas são, provavelmente, o resultado de uma degradação parcial de algumas proteínas e componentes celulares nos lisossomas, após um processo de autofagia e são uma modificação do SNC bastante característica do processo de envelhecimento, pois raramente surge em indivíduos com menos de 65 anos e é altamente expressa em cérebros de doentes com a doença de Alzheimer (Pinto, 2010; Rommel Almeida Fechine, 2012; Scialfa & Fernie, 2006).

Os pigmentos de lipofuscina são corpos residuais intracitoplasmáticos que se depositam e acumulam nos neurónios, células gliais e no endotélio capilar. Estes pigmentos são formados a partir da peroxidação e polimerização de constituintes celulares, nomeadamente de membranas mitocondriais que sofrem um processo de autofagia. Ainda não se sabe ao certo os efeitos da acumulação destes pigmentos, no entanto pensa-se que podem levar à degenerescência neuronal visto que são encontrados em grandes quantidades nos cérebros de doentes com doença de Alzheimer e doença de Parkinson (Pinto, 2010; Scialfa & Fernie, 2006).

Com o envelhecimento do SNC também se verifica um aumento da proteína amilóide e a sua consequente acumulação em placas, bem como o aparecimento de entrançados neurofibrilares resultantes da deposição de resíduos intracelulares que as células não conseguem expulsar. Estas alterações do SNC são bastante expressas em cérebros de indivíduos que padecem de doença de Alzheimer, sendo um dos principais mecanismos que tenta explicar a patologia (Pinto, 2010).

O sistema de neurotransmissores, durante o envelhecimento, é igualmente afetado havendo um declínio acentuado na sua produção, libertação e metabolismo bem como das enzimas envolvidas na transdução de sinais. O sistema dopaminérgico é o sistema mais acometido e é responsável pela diminuição da capacidade motora na idade avançada.

Verifica-se também a diminuição no SNC de níveis de acetilcolina, serotonina, catecolaminas, de GABA e de recetores colinérgicos (Pinto, 2010; Rommel Almeida Fechine, 2012; Scialfa & Fernie, 2006).

Estas alterações do SNC, apesar de serem comuns com o avançar da idade, em conjunto com outros fatores de risco, quer genéticos e/ou ambientais, levam a um aumento da vulnerabilidade e suscetibilidade para o aparecimento de doenças neurodegenerativas (Pinto, 2010).

3.2.2 Fatores genéticos

Embora a patogénese das doenças neurodegenerativas não esteja completamente esclarecida, o contributo e os avanços dos estudos genéticos sobre estas doenças têm sido determinantes para a compreensão dos mecanismos que podem estar na origem do processo de neurodegenerescência. Apesar da etiologia da maior parte dos casos de pacientes com doenças neurodegenerativas ser de origem esporádica, o peso dos fatores genéticos têm sido cada vez mais preponderantes na aquisição de informação sobre as causas das doenças.

No que diz respeito à doença de Alzheimer, vários estudos foram realizados de modo a compreender os mecanismos genéticos subjacentes à doença. E os fatores genéticos podem estar relacionados com a DA de duas formas distintas (Engelhardt, 2012).

Por um lado, a componente genética pode ser um fator determinante para o aparecimento da doença, sendo transmitida de acordo com um padrão autossómico dominante, e nestes casos, a DA é desenvolvida a uma idade precoce, isto é antes dos 65 anos. A forma familiar de DA é uma forma rara da doença e representa uma minoria dos casos de doentes que sofrem desta patologia, estando relacionada com mutações de genes envolvidos na produção e metabolismo da proteína β -amilóide. Estas mutações estão correlacionadas com 3 genes: o PPA, que codifica a proteína precursora amilóide, e os genes PSEN1 e PSEN2 que codificam as enzimas presenilina 1 e presenilina 2, respetivamente. As alterações genéticas culminam num aumento da síntese do péptido A β que se eleva a níveis tóxicos e consequentemente na sua agregação e deposição em placas neuríticas (Karch & Goate, 2015; Reitz & Mayeux, 2014).

Por outro lado, existem evidências de outros fatores genéticos que representam apenas uma suscetibilidade ou um aumento do risco para o desenvolvimento de DA de início

tardio. De facto, vários estudos mostram que um polimorfismo no gene que codifica a apolipoproteína E (APOE) aumenta a predisposição para o desenvolvimento de DA, sendo considerado o maior fator de risco para o aparecimento da doença, nomeadamente, de início tardio (Engelhardt, 2012; Selkoe, 2001).

A APOE é uma lipoproteína que está envolvida no metabolismo do colesterol. A nível do SNC, a APOE, é sintetizada maioritariamente pelos astrócitos e microglia e é a lipoproteína predominante deste sistema. Esta é crítica na mobilização e transporte de lípidos, como o colesterol, fosfolípidos e ácidos gordos, no cérebro e está também envolvida em mecanismo de reparação e plasticidade neuronal. O gene que codifica a APOE encontra-se num locus do cromossoma 19 e tem três variantes alélicas: a $\epsilon 2$, a $\epsilon 3$ e a $\epsilon 4$; sendo o alelo $\epsilon 4$ da APOE associado a uma maior predisposição e suscetibilidade para a DA (Fonslow *et al.*, 2013; Reitz & Mayeux, 2014). Efetivamente, a presença de uma cópia da variante alélica $\epsilon 4$ aumenta o risco de desenvolvimento da DA em três vezes, enquanto o genótipo com duas cópias do mesmo alelo aumenta o risco em cerca de doze vezes (Engelhardt, 2012; Lim *et al.*, 2015). Vários estudos apontam que a APOE, em especial a sua isoforma $\epsilon 4$, contribui para a agregação e deposição do péptido β -amilóide bem como, para uma degradação e clearance menos eficaz deste péptido o que conduz a processos neurodegenerativos (Fonslow *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, a GWAS (*Genome-Wide Association Studies*) relacionou vários genes, como o CR1, CLU, ABC47, PICALM, BIN1, entre muitos outros, com a DA esporádica. Estes genes estão implicados em diferentes processos celulares que incluem, a inflamação, o metabolismo lipídico, endocitose e comunicação celular e para além de serem apontados como a causa que leva a um aumento da suscetibilidade para o desenvolvimento da doença, podem também, abrir portas à descoberta de novos mecanismos inerentes à DA esporádica (Engelhardt, 2012; Lim *et al.*, 2015).

Recentemente, foi identificado um outro gene, o TREM2, que é também considerado um fator de risco genético para o desenvolvimento da DA esporádico de início tardio. Em 2013, foi reportada uma mutação rara no gene TREM2 que consistia na substituição de uma histidina por uma arginina. Adicionalmente, vários estudos recentes têm vindo a sugerir que esta variância confere uma maior predisposição para o desenvolvimento da DA, tal como acontece com a APO $\epsilon 4$ (Lim *et al.*, 2015).

Relativamente à doença de Parkinson (DP), apesar de ainda não serem conhecidos os mecanismos que levam à degenerescência dos neurónios dopaminérgicos e de a doença ser predominantemente considerada idiopática, vários estudos genéticos recentes

conduziram a evidências de que a DP contém uma componente hereditária (Wirdefeldt, Adami, Cole, Trichopoulos, & Mandel, 2011). Estima-se que 5% dos casos de DP sejam de origem hereditária e que parentes de primeiro grau de doentes com DP detenham cerca de duas a três vezes mais probabilidade de desenvolver a doença (Werneck, 2010).

De facto, já foram identificados vários locus em diferentes cromossomas que estão relacionados com a DP (**Tabela 1**). Estas mutações decorrem em genes que codificam proteínas associadas à doença, nomeadamente nos genes SNCA, LRRK2, UCHL-1 que são reconhecidos por provocar a doença de acordo com um padrão hereditário autossómico dominante e os genes Parkina, PINK-1, DJ-1 e ATP13A2 que induzem a DP de forma autossómica recessiva (Huang, Chan, & Halliday, 2007; Wirdefeldt *et al.*, 2011).

O gene SNCA foi o primeiro a ser relacionado com a DP, e este codifica a proteína α -sinucleína que é o constituinte maioritário dos corpos de Lewy. Deste então, foram identificadas algumas mutações *missense*, bem como duplicações e triplicações deste gene que conduzem à DP de uma forma precoce, devido à produção excessiva da proteína α -sinucleína que leva a neurotoxicidade.

O Locus PARK2 integra o gene Parkina, que expressa uma proteína de igual nome. A Parkina é uma enzima E3 e está envolvida no processo de ubiquitinação, tal como a proteína UCH-L1. Mutações nestes dois genes levam a alterações no sistema de controlo de qualidade, também conhecido como o sistema ubiquitina-proteossoma (SUP).

Os genes PINK-1 e DJ-1 codificam para proteínas que se pensam estar envolvidas em processos mitocondriais, assim alterações nestes genes podem traduzir-se numa disfunção mitocondrial ou em situações de *stress* oxidativo (Huang *et al.*, 2007; Wirdefeldt *et al.*, 2011).

As mutações *missense* do gene que expressa a proteína LRRK2 são a causa de etiologia genética mais comum de DP, nomeadamente a mutação G2019S (Werneck, 2010).

Tabela 1- Formas hereditárias monogénicas de Doença de Parkinson. Adaptado de (Massano, 2011; Wirdefeldt *et al.*, 2011)

Locus	Gene	Cromossoma	Padrão Hereditário	Manifestações Clínicas
<i>PARK1</i> <i>PARK4</i>	SNCA	4q21	Dominante	Início relativamente precoce (30-40 anos) Progressão rápida Demência
<i>PARK2</i>	Parkin	6q25	Recessivo	Início precoce juvenil Progressão lenta Discinesia/Distonia
<i>PARK3</i>	—	2p13	Dominante	Demência
<i>PARK5</i>	UCH-L1	4p14	Dominante	Fenótipo semelhante à DP esporádica
<i>PARK6</i>	PINK1	1p35-36	Recessivo	Início precoce (30-40 anos) Progressão lenta
<i>PARK7</i>	DJ-1	1p36	Recessivo	Início precoce Distonia e alterações psiquiátricas
<i>PARK8</i>	LRRK2	12q12	Dominante	Fenótipo semelhante à DP esporádica
<i>PARK9</i>	ATP13A2	1p36	Recessivo	Início precoce Progressão rápida Efeitos piramidais/Demência
<i>PARK10</i>	—	1p32	—	—
<i>PARK11</i>	GIGYF2	2q36-37	—	—
<i>PARK12</i>	—	Xq21-25	—	—
<i>PARK13</i>	Omi/HtrA2	2p12	Dominante	—
<i>PARK14</i>	PLA2G6	22q12-13	Recessivo	Início precoce Distonia/Efeitos piramidais
<i>PARK15</i>	FBXO7	22q12-13	Recessivo	Início precoce Efeitos piramidais
<i>PARK16</i>	—	1q32	—	—

3.2.3 Fatores ambientais

Nas últimas décadas, as doenças neurodegenerativas tornaram-se uma das maiores preocupações na sociedade devido à sua elevada e crescente incidência a nível mundial. Desde então, a comunidade científica tem aplicado vários esforços com o intuito de descobrir o que está por trás destas doenças. Inúmeros estudos foram efetuados neste sentido, e apesar da etiologia que está intrínseca a estas patologias continuar obscura, há cada vez mais evidências de que fatores ambientais, aos quais somos expostos todos os dias, podem eventualmente aumentar a predisposição para o aparecimento destas numa fase mais tardia da vida (Chin-Chan, Navarro-Yepes, & Quintanilla-Vega, 2015; quoc Luong, 2013).

Várias substâncias, às quais a sociedade está exposta diariamente, mostraram-se neurotóxicas. Metais, como o chumbo, o mercúrio, o manganês, o alumínio, entre outros, bem como alguns pesticidas, substâncias químicas e várias nanopartículas parecem estar envolvidos na génese das doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson (Chin-Chan *et al.*, 2015).

Na verdade, vários estudos demonstraram que estas substâncias apresentam toxicidade no cérebro devido à sua capacidade de aumentar os níveis da proteína β -amilóide, assim como levarem à hiperfosforilação da proteína tau, o que provoca a sua acumulação em placas amilóides e em entrançados neurofibrilares, marcas histológicas características da DA. Na DP a exposição a determinadas substâncias tem sido relacionada com os mecanismos inerentes a esta patologia, como a disfunção mitocondrial, alterações na homeostase de iões e na agregação proteína da α -sinucleína (Chin-Chan *et al.*, 2015).

Os efeitos dos metais pesados nas doenças neurodegenerativas, como o chumbo e o mercúrio foram testados *in vitro* através de uma cultura de células neuronais de ratos, onde se verificou um aumento da expressão da proteína precursora amilóide (PPA); no caso específico do mercúrio, parece que este estimula a formação da proteína β -amilóide insolúvel e induz *stress* oxidativo e neurotoxicidade. Diversos iões metálicos como o ferro (III), o cobre (II), o cobalto (III), o alumínio (III) e o manganês (II) foram relacionados com a DP, e estudos indicam que na presença destes iões há uma aceleração significativa na formação de fibrilas de α -sinucleína. A agregação da proteína α -sinucleína em fibrilhas constitui o componente principal das inclusões intracelulares,

também conhecidas como corpos de Lewy, nos neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* (quoc Luong, 2013).

Os pesticidas são considerados como um dos principais fatores envolvidos na contaminação ambiental em termos globais e, tem-se verificado que a exposição a longo prazo a estas substâncias traz consequências para a saúde humana (Mostafalou & Abdollahi, 2013).

Desde a descoberta de que a exposição a MPTP provoca manifestações semelhantes aos sintomas parkinsonianos e que este composto danifica seletivamente os neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta*, vários têm sido os estudos que se prendem na relação entre a DP e fatores ambientais tóxicos similares (Chin-Chan *et al.*, 2015). Muitos estudos têm relacionado a DP com o uso de pesticidas, nomeadamente estudos populacionais que provam uma maior incidência da doença nas pessoas expostas a pesticidas, estudos caso-controle, de coorte e transversais que apontam que a exposição a determinados inseticidas e herbicidas levam a um aumento do risco da DP (Mostafalou & Abdollahi, 2013). Além disso, foi também relatado elevados níveis de pesticidas no soro de pacientes com a patologia assim como alguns pesticidas foram quantificados em cérebros *post mortem* com DP (Chin-Chan *et al.*, 2015; Mostafalou & Abdollahi, 2013).

A relação entre a exposição crónica a pesticidas e a DA não é tão bem documentada e os resultados são muitas vezes inconsistentes. No entanto, foram efetuados alguns estudos populacionais onde os participantes eram expostos ocupacionalmente a pesticidas. Os resultados culminam num aumento ligeiro da taxa de risco para o desenvolvimento da DA, nomeadamente quando expostos a pesticidas organofosforados (Chin-Chan *et al.*, 2015; Mostafalou & Abdollahi, 2013). Estudos *in vitro* com vários inseticidas demonstraram uma aumento dos níveis da PPA, da proteína A β e BACE1, bem como a diminuição da enzima que hidrolisa a insulina, IDE, que é também responsável pela degradação da proteína A β . Quanto a dados *in vivo*, um inseticida organofosforado foi relacionado com disfunções cognitivas, stress oxidativo e danos neuronais devido ao aumento significativo dos níveis de A β no córtex e hipocampo de ratinhos após 6 meses da administração subcutânea do inseticida (Chin-Chan *et al.*, 2015).

A utilização de nanopartículas (NPs) nas mais diversas áreas tem vindo a aumentar, inclusive, estas constituem uma alternativa importante no desenvolvimento de estratégias de libertação de fármacos no tratamento de doenças neurodegenerativas. Devido ao seu

tamanho estas partículas têm a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e libertar eficientemente fármacos específicos. Apesar de não haver estudos epidemiológicos que associem estas partículas como fatores de risco da DA e DP, é pertinente estudar os seus potenciais efeitos tóxicos. Há evidências que sugerem que as NPs podem contribuir para a alteração de determinados mecanismos moleculares envolvidos na patogénese da DA e da DP, por exemplo, um estudo recente mencionou que a administração nasal de nanopartículas de óxido de titânio, (TiO₂-NP) em ratinhos, originou uma perda neuronal no hipocampo, *stress* oxidativo e gliose. Da mesma forma, ratos expostos a outras NPs de Al, Cu e Ag mostram elevados níveis de ROS (espécies reativas de oxigénio), produtos de peroxidação lipídica e níveis reduzidos de antioxidantes. Estudos *in vitro* demonstram que a exposição de células de neuroblastoma humano e de rato a nanopartículas de sílica induz um aumento do teor intracelular de proteína A β em ambas as linhas celulares que pode resultar de um aumento da PPA e/ou pela produção excessiva de ROS, assim como a exposição a neurónios dopaminérgicos instituiu um aumento do *stress* oxidativo e uma resposta inflamatória (Chin-Chan *et al.*, 2015).

Outros fatores, como os hábitos alimentares e o estilo de vida, parecem desempenhar um papel fulcral no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Inúmeros estudos referem que níveis elevados de colesterol e a ingestão de gordura têm uma relação positiva com a prevalência de DA. Uma diminuição do consumo de vegetais, fruta e de nutrientes com propriedades antioxidantes, bem como um aumento da ingestão de alimentos calóricos, foi também observado em indivíduos que sofrem da patologia em comparação com um grupo controlo saudável, havendo mesmo evidências que o consumo frequente de frutas, legumes, e peixe e alimentos ricos em ómega-3 levam a uma diminuição do risco de demência e DA, nomeadamente em indivíduos não portadores da variante alélica ϵ 4 da APOE. Quanto à DP, existem vários estudos que associam o consumo de café e tabaco como um fator neuroprotector da doença (Migliore & Coppedè, 2009).

Recentemente, surgiu uma outra hipótese que sublinha os agentes infecciosos como um possível fator de risco para o desenvolvimento de inúmeras doenças neurodegenerativas. Tem sido sugerido que certas infeções patogénicas quer infantis, quer contraídas ao longo da vida, podem levar a uma resposta de degeneração neuronal a longo termo. E, embora seja um assunto controverso, há vários estudos emergentes que apontam para infeções

virais, bacterianas ou provocadas por outros agentes patogénicos como indutoras de mecanismos que podem provocar neurodegenerescência (De Chiara *et al.*, 2012). A relação entre infecções e as doenças neurodegenerativas será discutida noutro capítulo desta dissertação.

3.3 Mecanismos implicados no desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas

Ainda não se sabe ao certo como se desencadeia o mecanismo bioquímico e fisiopatológico que leva ao aparecimento das doenças neurodegenerativas. No entanto, existem evidências de alguns processos implicados no desenvolvimento destas patologias neurológicas. Estes processos parecem ser comuns à maior parte das doenças de carácter neurodegenerativo e incluem o *misfolding* proteico e a sua consequente agregação e deposição sob a forma de amiloide, o *stress* oxidativo e a formação de radicais livres, disfunção mitocondrial, excitotoxicidade e neuroinflamação (De Chiara *et al.*, 2012).

3.3.1 *Misfolding* Proteico e as Doenças Neurodegenerativas

O fenómeno de *misfolding* corresponde ao enrolamento incorreto de proteínas, isto é a proteína adquire uma estrutura conformacional díspar daquela que é considerada a sua configuração nativa. Através do complexo processo de enrolamento, as proteínas assumem uma configuração tridimensional específica que lhes confere uma capacidade funcional biológica (Chiti & Dobson, 2006). No entanto, em eventos de *stress* oxidativo que ocorrem, entre outros fatores, devido ao envelhecimento, desequilíbrio de iões, à presença de radicais livres ou de mutações genéticas, as proteínas adquirem uma conformação estrutural distinta, consequência de um enrolamento anormal ou simplesmente sofrem desnaturação. Estas proteínas anómalas, caracterizadas por uma estrutura conformacional diferente da sua configuração nativa, ficam inativas e devido a forças hidrofóbicas têm a tendência para se agregar. Dessa agregação pode resultar a formação de agregados amorfos, oligómeros ou agregados fibrilares ordenados. Os agregados fibrilares podem, ainda, dar origem a agregados amilóides que são estruturas altamente organizadas em filamentos β perpendiculares ao eixo axial (Takalo, Salminen, Soininen, Hiltunen, & Haapasalo, 2013).

A tendência de agregação aumenta com o aumento da concentração intracelular de proteínas *misfold*. E o aparecimento destas proteínas modificadas pode ser promovido por mutações genéticas, alterações pós-traducionais através de processos de fosforilação, oxidação ou de clivagem proteolítica, bem como pela diminuição da capacidade do sistema de controlo de qualidade como o sistema ubiquitina-proteassoma para degradar as proteínas anómalas. Estes agregados proteicos são insolúveis e tóxicos e a sua

acumulação pode levar à formação de placas que quando se depositam tornam-se patogénicas (Takalo *et al.*, 2013).

O *misfolding* proteico está relacionado com a génese de algumas doenças, que são referidas como doenças conformacionais. As doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a doença de Huntington e a Esclerose Lateral Amiotrófica são consideradas doenças conformacionais, pois apresentam na sua fisiopatologia alterações da conformação nativa de certas proteínas que ao se agregarem levam à formação de fibras amilóides e consequente citotoxicidade (**Figura 1**) (Gonçalves & Outeiro, 2015; Santos, 2015; Takalo *et al.*, 2013). Ainda que não se saiba ao certo, a relação entre o *misfolding* de determinadas proteínas envolvidas nos processos neuronais e o curso patológico das doenças neurodegenerativas, sabe-se que estas alterações levam à formação de deposições proteicas no interior e/ou exterior das células nervosas o que se traduz em desordens nos mecanismos de síntese, transporte, degradação e controlo de qualidade celular assim como em desordens sinápticas que podem levar à morte neuronal e consequente neurodegenerescência (Gonçalves & Outeiro, 2015; Santos, 2015).

Os doentes que padecem de alguma doença neurodegenerativa apresentam modificações histopatológicas em certas regiões do cérebro, como os entrançados neurofibrilares e placas neuríticas, cujo componente predominante são proteínas *misfolded*. Na doença de Alzheimer, uma das principais marcas patológicas é a presença extracelular de agregados de péptido β -amilóide que se acumulam e depositam em placas neuríticas. Também, a presença intracelular de proteína tau hiperfosforilada que constituem os entrançados neurofibrilares é uma característica da patologia. Na doença de Parkinson verifica-se a presença de inclusões intracelulares nos neurónios, também conhecidos como corpos de Lewy, ricos em agregados de α -sinucleína. A doença de Huntington é caracterizada por inclusões intranucleares de agregados de proteína de huntingtina (Gonçalves & Outeiro, 2015; Ross & Poirier, 2004; Takalo *et al.*, 2013).

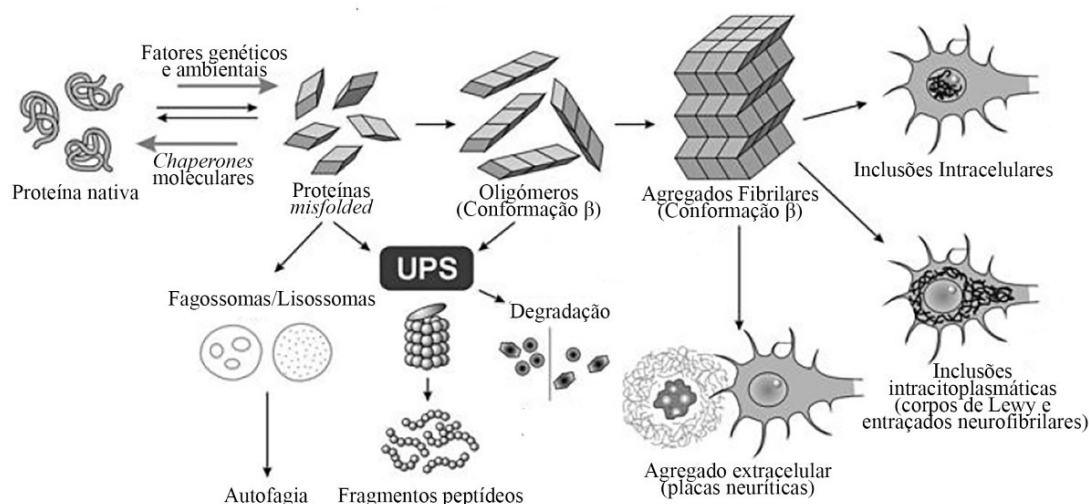


Figura 1 - Modelo de proteínas *misfolded* e agregação fibrilar que leva a deposição de agregados proteicos intra e extracelulares. Adaptado de (Saadallah, 2013)

3.3.2 Stress Oxidativo e a formação de radicais livres

O *stress* oxidativo prende-se com a produção excessiva de radicais livres que detêm a capacidade de provocar potenciais danos biológicos. A produção excessiva em diversos sistemas biológicos de espécies reativas de oxigénio (*reactive oxygen species* - ROS) e espécies reativas de azoto, (*reactive nitrogen species* - RNS) em conjunto com um sistema antioxidante deficiente está na origem do *stress* oxidativo (Gandhi & Abramov, 2012; Hussain *et al.*, 2015). Isto é, no metabolismo celular, que decorre essencialmente nas mitocôndrias, dá-se um processo de conversão energética que é essencial a todas as células. Neste processo de conversão energética, também conhecido como fosforilação oxidativa, através da cadeia transportadora de eletrões localizada na membrana mitocondrial, decorre a síntese de adenosina trifosfato (ATP) na presença de oxigénio. No entanto, durante a fosforilação oxidativa, também há formação de espécies reativas de oxigénio (ROS), que quando em excesso, podem ser nocivas para o organismo (Hussain *et al.*, 2015; Teixeira, Feio, & Figueira, 2014). De entre todas as ROS, destacam-se o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o radical hidroxilo (OH^{\bullet}) que interagem quimicamente com determinadas moléculas alterando a sua funcionalidade celular pois detêm a capacidade de induzir danos a estruturas celulares, lípidos, proteínas e DNA, o que pode resultar na morte celular (Gandhi & Abramov, 2012).

O SNC é particularmente vulnerável ao *stress* oxidativo. Por um lado, é metabolicamente bastante ativo e tem uma capacidade de regeneração celular menor do que os outros sistemas. Os neurónios e os astrócitos são células com necessidades metabólicas fastidiosas muito dependentes da atividade mitocondrial estando muito expostos às ações das ROS. Por outro lado, o cérebro humano é responsável pelo consumo de um grande volume de oxigénio, cerca de 20% do consumo total e contém quantidades elevadas de substâncias, como por exemplo, o ferro, glutamato e ácidos gordos que são facilmente oxidáveis, o que o torna especialmente suscetível aos efeitos danosos das ROS (Gandhi & Abramov, 2012; Hussain *et al.*, 2015). No cérebro, o *stress* oxidativo deve-se a um desequilíbrio da homeostasia *redox*, que pode resultar de um aumento das ROS ou do comprometimento dos mecanismos protetores antioxidantes. Este desequilíbrio, leva a reações como a peroxidação lipídica, a oxidação proteica e a oxidação de DNA e RNA, que parecem estar envolvidas em processos de degenerescência que resultam em doenças neurodegenerativas (Hussain *et al.*, 2015). Na verdade, vários estudos têm sugerido que o *stress* oxidativo está relacionado com doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a doença de Huntington e a esclerose lateral amiotrófica (Teixeira *et al.*, 2014).

Em casos de DA e DP, há evidências consistentes que demonstram níveis aumentados de *stress* oxidativo através da presença de danos celulares provocados por ROS, nas regiões cerebrais específicas afetadas pelas doenças. A peroxidação lipídica consiste na degradação oxidativa dos lípidos das membranas celulares e desta reação resulta o 4-hidroxi-2,3-nonenal (HNE) e o malondialdeído (MDA), marcadores estes, que se encontram a níveis elevados no córtex e hipocampo de doentes com DA e na *substantia nigra* de doentes com DP. Marcadores de oxidação proteica, como a modificação carboxílica e a nitração de proteínas devido às RNS, também são evidenciados no cérebro de pacientes com DA e nos corpos de Lewy presentes em doentes que padecem de PD. Da oxidação do DNA e RNA podem resultar alterações mutagénicas, onde se verifica a modificação de bases nucleotídicas, bem como a separação da cadeia dupla e a ligação cruzada com proteínas (Gandhi & Abramov, 2012; Hussain *et al.*, 2015). Em doentes com DA, estudos demonstram um aumento de guanosina hidroxilada em comparação com grupos controlo. Em doentes que sofrem de PD verificou-se um aumento da 8-hidroxiguanosina resultante da oxidação nucleotídica, como também foi mencionado um

aumento de deleções no DNA mitocondrial nos neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra* (Gandhi & Abramov, 2012).

Estas alterações, que ocorrem devido ao aumento da quantidade de ROS e RNS, levam a uma disfunção mitocondrial. O stress oxidativo induz mutações no DNA mitocondrial, perturbação da cadeia respiratória, diminuição da síntese de ATP, devido a alterações na fosforilação oxidativa, a perda da homeostase celular do cálcio que potencia a excitotoxicidade, e alterações na permeabilidade das membranas mitocondriais, que conduzem à degenerescência dos neurónios e consequentemente podem levar ao desenvolvimento das doenças neurodegenerativas (Hussain *et al.*, 2015). Para além da disfunção mitocondrial, o *stress* oxidativo pode levar à neuroinflamação através da ativação das células da microglia e astrócitos que conduz a diversas respostas inflamatórias e consequentemente, a inflamação crónica pode levar à produção ROS e RNS. O *stress* oxidativo está também implicado no processo de *misfolding* das proteínas A β e α -sinucleína, principais características histopatológicas da DA e da DP, respetivamente (Andersen, 2004; Hussain *et al.*, 2015). No entanto o papel do *stress* oxidativo no surgimento das doenças neurodegenerativas é controverso, pois não está claro se este é uma causa ou uma consequência dos processos que levam à degenerescência neuronal (Teixeira *et al.*, 2014).

3.3.3 Neuroinflamação e as Doenças Neurodegenerativas

A resposta inflamatória é um mecanismo de defesa, que tem como objetivo proteger o nosso organismo contra fatores de *stress* ambientais, que detêm a capacidade de causar danos celulares. Estes fatores incluem infeções microbianas de origem viral, bacteriana ou antifúngica, agentes físicos, como a radiação, trauma ou queimaduras e os mais diversos agentes químicos (Campbell, 2004; Lima, Costa, De souza, & Gomes-Leal, 2007).

A componente inflamatória é primeira linha de defesa do sistema imunitário e é crítica na mediação de uma resposta defensiva, que tem a intenção de reparar a área lesada. Esta, em regra é benéfica para o organismo pois, concomitantemente com o sistema imunitário, limita a sobrevivência e proliferação dos agentes patogénicos invasores, bem como promove a sobrevivência, reparação e recuperação do tecido celular. No entanto, se a

inflamação tiver um caráter crónico e não regulado pode ser seriamente lesiva para o organismo (Campbell, 2004; Lima *et al.*, 2007). É, consequentemente implicada numa série de patologias, inclusive, nas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica, entre outras. Na verdade, vários estudos experimentais em modelos animais e dados epidemiológicos *post mortem*, sugerem que a inflamação está presente tanto em lesões agudas do SNC quanto em lesões extensivas e prolongadas, como é o caso das doenças neurodegenerativas (Amor *et al.*, 2014; Chen, Zhang, & Huang, 2016).

A microglia e os astrócitos são os principais componentes celulares de imunidade inata presente do SNC, que quando expostos a potenciais condições patogénicas são ativados e desencadeiam uma série de respostas defensivas pró-inflamatórias, de forma a eliminar agentes patogénicos tanto endógenos como exógenos. A microglia quando ativada pode sofrer alterações morfológicas, transformando-se em células com capacidade fagocitária capazes de reconhecer e remover esses agentes, bem como resíduos de deterioração celular. Este mecanismo é neuroprotetor e não se traduz em neurotoxicidade ou degenerescência neuronal pois a microglia, os astrócitos e os mediadores inflamatórios apenas estão ativados até eliminarem as potenciais ameaças (Campbell, 2004; Chen *et al.*, 2016).

No entanto, há evidências que a desregulação do sistema imunitário e consequentemente a desregulação dos eventos inflamatórios associadas senescência do SNC, podem contribuir para a patogénese e/ou progressão das doenças neurodegenerativas. Os mecanismos pelos quais a inflamação pode conduzir à neurodegenerescência permanecem pouco compreendidos, contudo sabe-se que as doenças neurodegenerativas contém uma componente inflamatória crónica. Esta hipótese é suportada pela presença de astrócitos reativos e microglia ativada, assim como pela presença de quantidade elevadas de citocinas, quimiocinas, produtos do complemento e ROS no tecido cerebral de doentes com neurodegenerescência (Bettcher & Kramer, 2013; Chen *et al.*, 2016). Embora seja controverso, pensa-se que o processo inflamatório crónico é desencadeado na tentativa de depuração e remoção dos agregados proteicos amilóides. Os agregados proteicos anormais induzem a expressão de genes pró-inflamatórios que codificam para mediadores inflamatórios, tais como proteínas de fase aguda, como a proteína C-reativa, quimiocinas, citocinas, como o TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-1 α e produção de espécies reativas de oxigénio que, quando em excesso, podem conduzir à neurotoxicidade e

consequente degenerescência neuronal, e ainda estimular mais a síntese de proteínas anômalas (**Figura 2**) (Bettcher & Kramer, 2013; Campbell, 2004).

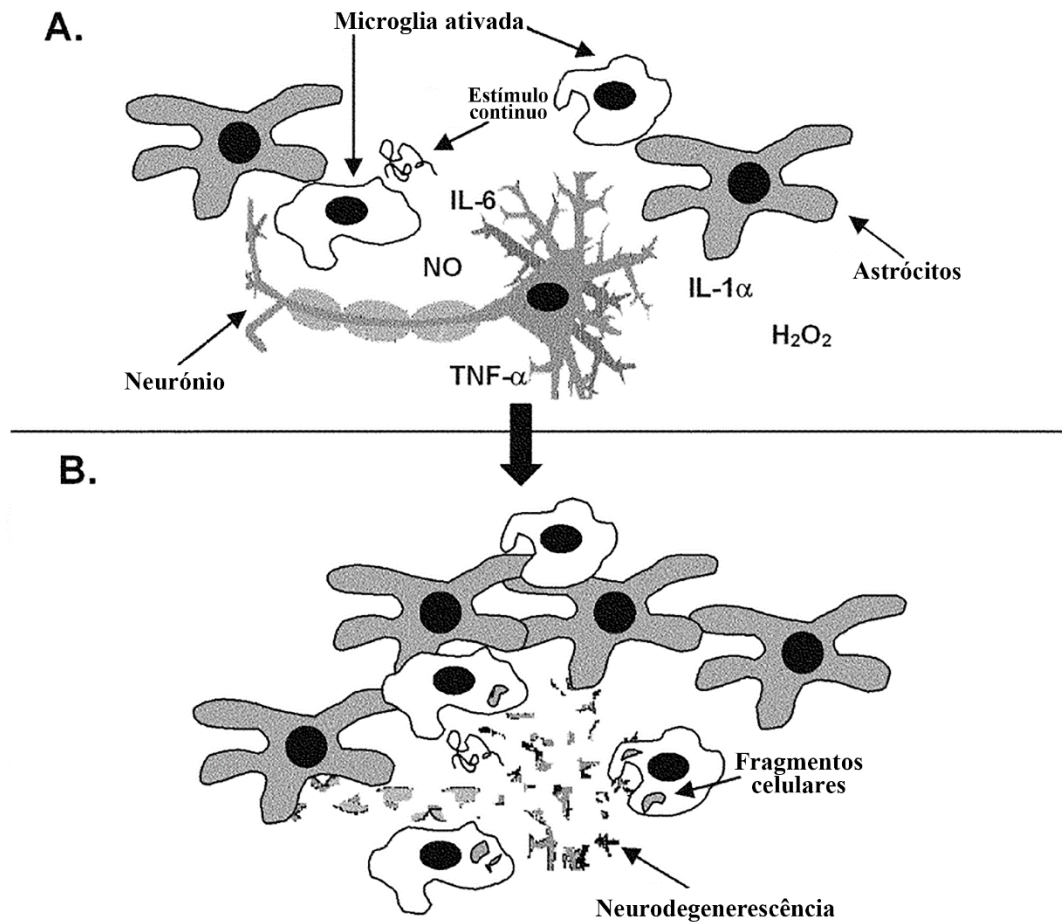


Figura 2- Consequências da neuroinflamação crônica. (A) Quando há um estímulo contínuo e a resposta inflamatória não é resolvida, as células da glia produzem ininterruptamente mediadores pró-inflamatórios (IL-6, IL-1 α , TNF- α) e ROS (NO, H₂O₂). (B) A produção excessiva de mediadores pró-inflamatórios e ROS pode conduzir à neurodegenerescência. Adaptado de (Campbell, 2004).

3.4 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) foi reportada pela primeira vez em 1907 pelo neuropatologista Alois Alzheimer. Alois Alzheimer identificou duas características neuropatológicas no tecido cerebral *post mortem* de um paciente que apresentava um declínio cognitivo, comportamental e uma acentuada perda de memória. Até aos dias de hoje, a acumulação de placas neuríticas e de entrançados neurofibrilares continuam a ser as principais marcas neuropatológicas que estão por trás da DA (Kumar, Singh, & Ekavali, 2015).

Atualmente, a doença de Alzheimer é considerada uma das doenças neurodegenerativas mais comuns relacionadas com a idade e estima-se que atinja cerca de 26,6 milhões de pessoas em todo o mundo, apresentando, segundo a Organização Mundial de Saúde uma tendência crescente (Zhou et al., 2013). É clinicamente caracterizada pela perda progressiva e irreversível de memória, bem como por um declínio acentuado da capacidade cognitiva, comportamental e de aprendizagem, sendo a responsável por aproximadamente 70 % dos casos de demência, que afetam a população idosa (Reitz & Mayeux, 2014). Neuropatologicamente, a doença caracteriza-se pela formação extracelular de placas neuríticas consequentes da acumulação da proteína β -amilóide e de entrançados neurofibrilares ricos em proteína tau hiperfosforilada (**Figura 3**), que levam à perda progressiva de neurónios em zonas específicas do cérebro, tais como o hipocampo e o córtex cerebral (Zhou et al., 2013).

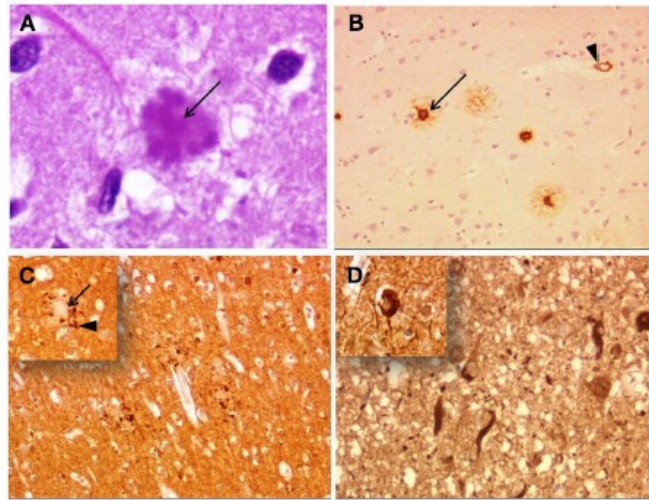


Figura 3- Neuropatologia da doença de Alzheimer. (A) Placa neurítica com núcleo amilóide (seta) corado com hematoxilina-eosina, 400x. (B) Placa neurítica marcada com anticorpo anti-A β . Núcleo amilóide (seta) rodeado por proteína A β – 100x. (C) e (D) Entrançados neurofibrilares marcados imunologicamente com anticorpo da proteína tau- 100x /200x. (Taipa *et al.*, 2012)

Apesar de os mecanismos que levam ao aparecimento da DA não serem totalmente conhecidos, presentemente existe um consenso entre a comunidade científica que considera a DA uma doença multifatorial. Esta culmina da interação entre o envelhecimento, fatores genéticos e fatores não genéticos, tais como o estilo de vida ou fatores ambientes que compreendem, por exemplo, as infecções por agentes patogénicos. Existem duas formas de Alzheimer: a esporádica e a forma familiar. A forma esporádica é a forma mais predominante e é caracterizada por ter um início tardio, surgindo em indivíduos com 65 anos ou mais, sendo a idade o fator de risco central. A etiologia que leva a esta forma da doença ainda não é conhecida, no entanto existem algumas teorias que tentam explicar o seu mecanismo. A hipótese da cascata amilóide e a hipótese que envolve a proteína tau são as mais consensuais. Esta forma de Alzheimer abrange 95% dos casos de doença. Os restantes 5% compreendem a forma de familiar de DA, que ao contrário da forma esporádica tem um início precoce. Os fatores de risco da DA familiar são genéticos e estão associados a mutações que interferem na síntese e metabolismo da proteína β -amilóide (Lim *et al.*, 2015). As mutações inerentes à forma familiar de DA compreendem 3 genes. Um gene que expressa a proteína precursora da proteína β -amilóide (PPA) e dois genes incluídos no processo metabólico da PPA, o PSEN1 e

PSEN2 que codificam as presenilinas (Alzheimer Association, 2015; Karch & Goate, 2015).

Trata-se de uma doença de progressão gradual e estima-se que exista um período de latência na ordem dos 20 anos, entre as primeiras alterações neuropatológicas e os primeiros sinais clínicos. No entanto, à medida que a degradação do cérebro prossegue será cada vez mais notório o comprometimento cognitivo, comportamental e funcional. O sintoma mais comum é a perda de memória esporádica a curto prazo. Todavia com a progressão da doença outros sinais começam a surgir, sendo os mais frequentes, a desorientação com perda de referências temporais e espaciais, alteração da linguagem, do comportamento, o que leva a incapacidade para a realização de atividades da vida diária (Alzheimer Association, 2015). As manifestações clínicas da DA podem ser inseridas em 3 estadios evolutivos, o Alzheimer pré-clínico, um estadio de um leve declínio cognitivo e mais tarde, o estadio de demência propriamente dita. Porém, nem todos os doentes que padecem da DA manifestam os sintomas de igual forma ou com igual gravidade (Alzheimer Association, 2015; Montine *et al.*, 2012).

Na fase de Alzheimer pré-clínico, os indivíduos ainda não apresentam qualquer tipo de sinais ou manifestações clínicas visíveis, como por exemplo perda de memória, apesar de apresentarem alterações cerebrais e biomarcadores no sangue e/ou no líquido cefalorraquidiano, que indicam a presença da doença (Alzheimer Association, 2015; Montine *et al.*, 2012).

Os pacientes que se enquadram no estadio “de um leve declínio cognitivo” apresentam alterações cognitivas ligeiras, que compreendem a perda de memória esporádica detetável pelo doente e pessoas envolvidas, no entanto estas manifestações clínicas não influenciam as suas atividades diárias. Estudos indicam que 15 a 20 % dos doentes que se encontram nesta fase tendem a evoluir para DA (Alzheimer Association, 2015; Montine *et al.*, 2012).

Por fim, os doentes que se encontram na última fase sofrem de demência grave, onde as suas capacidades cognitivas e motoras se encontram extremamente debilitadas, sendo a sua autonomia quase nula (Alzheimer Association, 2015; Montine *et al.*, 2012). Em 2007, Dubois e colaboradores revolucionaram o diagnóstico da DA. Para além, da avaliação detalhada e rigorosa dos dados clínicos do doente através da correlação entre a história clínica do doente, um exame físico e neurológico e um exame de avaliação intelectual e

psiquiátrica, os investigadores adicionaram ao diagnóstico da DA a verificação da presença de biomarcadores específicos através do doseamento de proteína β -amilóide, tau e fosfo-tau no LCR, assim como a realização de teste genéticos quando se trata de uma possível transmissão autossómica dominante e a utilização da técnica de PET (tomografia por emissão de positrões) cerebral para detetar a presença de amilóide (Dubois, Feldman, & Scheltens, 2007).

Apesar dos inúmeros estudos e pesquisa realizados ao longo das últimas décadas, o mecanismo que leva ao aparecimento de DA não está completamente esclarecido. Existem infindas hipóteses que tentam explicar a sua etiologia, no entanto nenhuma delas consegue expor toda a complexidade inerente à doença. As principais marcas neuropatológicas que caracterizam a DA, como a presença de placas neuríticas amilóides e de entrançados neurofibrilares consequência da deposição intracelular da proteína tau, levam a crer que estas proteínas têm um papel fulcral no desenvolvimento da DA. A cascata amiloida e a proteína tau são as hipóteses mais consensuais. A teoria colinérgica, a neuroinflamação, a disfunção mitocondrial e o *stress* oxidativo são exemplos de outras teorias que tentam refletir a DA.

A teoria da cascata metabólica amilóide considera que o evento inicial da DA é formação placas neuríticas devido a um aumento da produção e/ou diminuição da degradação do péptido β -amilóide. As placas neuríticas ou senis são estruturas esféricas complexas que contêm um núcleo central rico em proteína $A\beta$, encontrando-se circundadas por axónios e terminações nervosas distróficas. A proteína β -amilóide é formada através da proteólise da proteína amilóide precursora (PPA), uma glicoproteína transmembranar presente no SNC. Esta é clivada a partir de duas vias: a via não amiloidogénica e a via amiloidogénica através da atividade enzimática da α -secretase, β -secretase, γ -secretase. Na via não amiloidogénica, a PPA sofre protólise pela α -secretase o que conduz à formação de um fragmento solúvel e não tóxico ($sPPA\alpha$). Por outro lado, a clivagem na PPA pela β -secretase leva à formação de um péptido insolúvel, o $sPPA\beta$ que sofre uma segunda clivagem pela γ -secretase originando um péptido neurotóxico (**Figura 4**).

A clivagem através da γ -secretase pode dar origem a duas isoformas da proteína $A\beta$, uma com 40 aminoácidos e outra com 42 aminoácidos, $A\beta_{40}$ e a $A\beta_{42}$, respetivamente. A forma mais frequente é a $A\beta_{40}$, no entanto, a $A\beta_{42}$ é a forma que apresenta uma maior toxicidade devido às suas propriedades hidrofóbicas e de insolubilidade, esta tem uma

maior propensão para se agregar em fibrilhas e consequentemente para a formação das placas amilóides (Kim, Kim, Hwang, & Kim, 2012; Lim *et al.*, 2015).

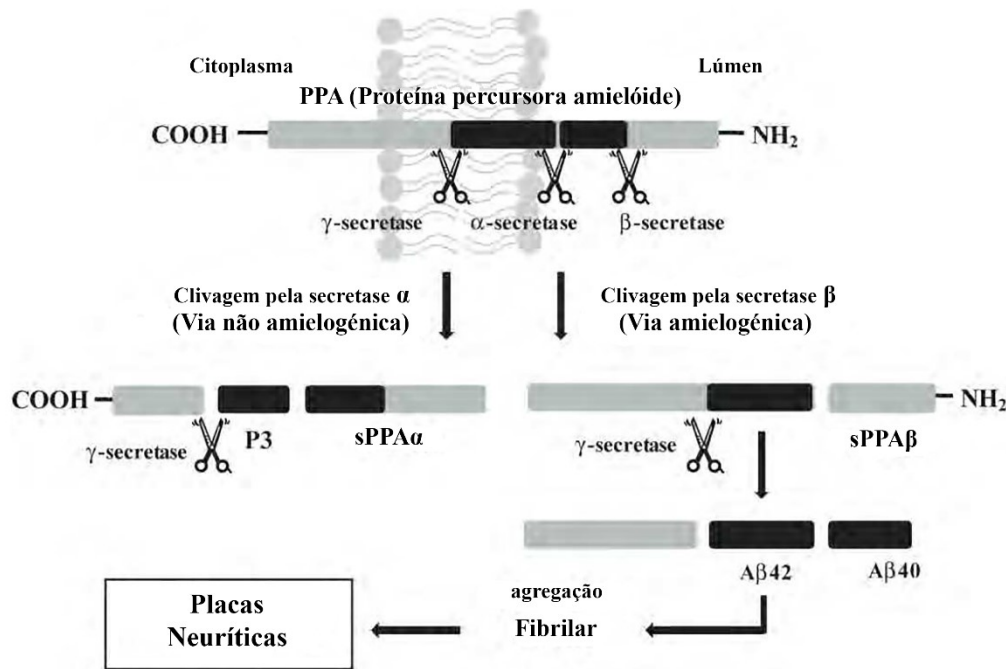


Figura 4- Processo de proteólise da proteína precursora amilóide (PPA) e formação da proteína β- amilóide (Aβ). Adaptado de (Kim *et al.*, 2012).

Quando há um desequilíbrio entre a produção e a degradação da Aβ42, esta acumula-se no cérebro sob a forma de elementos tóxicos, levando a uma cascata de eventos que abrangem a neuroinflamação, *stress* oxidativo e hiperfosforilação da proteína tau com consequente formação de entrançados neurofibrilares que se pensa levar a disfunção sináptica, excitotoxicidade e por fim, à morte celular (Alves, Correia, Miguel, Alegria, & Bugalho, 2012).

Os entrançados neurofibrilares estão localizados no interior dos neurónios e estes são predominantemente constituídos por proteína tau hiperfosforilada. A proteína tau está associada a um grupo específico de proteínas responsáveis pela organização, integridade e estabilidade dos microtúbulos que em condições morfológicas normais provêm suporte estrutural aos neurónios e ao transporte axonal (Lim *et al.*, 2015). No entanto, em pacientes com DA, a proteína tau encontra-se hiperfosforilada, o que leva a uma alteração do seu estado conformacional, e assim a uma diminuição da sua afinidade com os

microtúbulos. Ao se desintegrarem dos microtúbulos, estes associam-se em agregados neurofibrilares impossibilitando o transporte de informação entre os neurónios, o que conduz à neurodegenerescência (**Figura 5**) (Castellani & Perry, 2012; Iqbal, Liu, Gong, & Grundke-Iqbal, 2010).

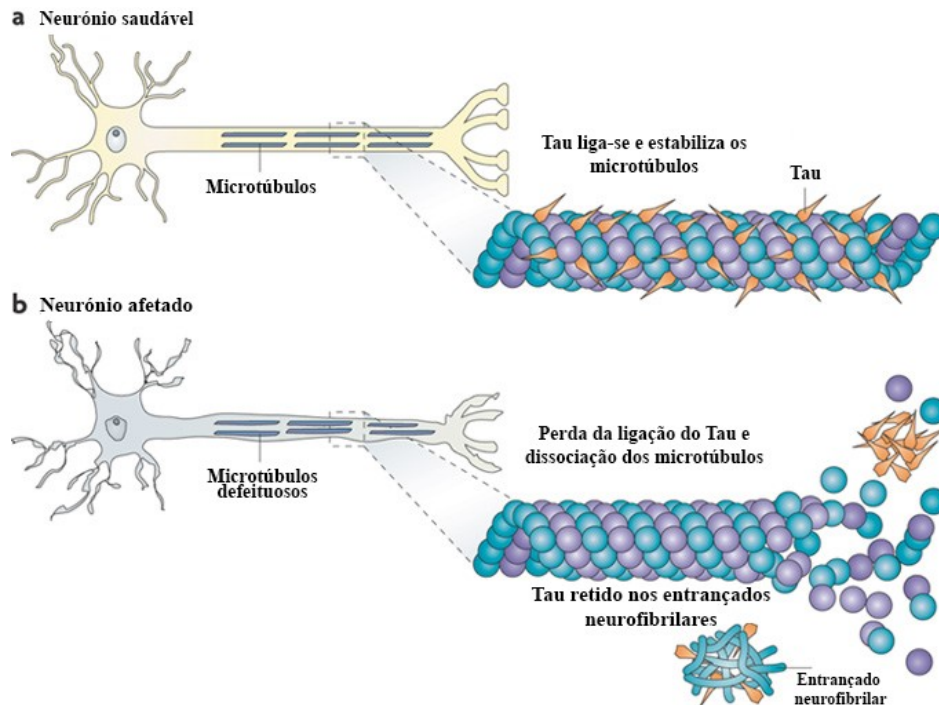


Figura 5- Formação de entrançados neurofibrilares a partir da proteína tau e a consequente destabilização dos microtúbulos. Adaptado de (Brunden, Trojanowski, & Lee, 2009).

Vários estudos demonstraram que a progressiva acumulação de entrançados neurofibrilares ao longo do tempo, está relacionada com a progressão do declínio cognitivo, podendo-se extrapolar assim o avanço da doença.

Apesar de ainda não existir um consenso sobre o mecanismo inerente, existem várias evidências de que a inflamação no cérebro pode contribuir para a patogénese e progressão da DA. Diversos estudos demonstraram que as placas neuríticas ricas em A β podem causar inflamação neuronal e neurovascular e consequentemente contribuir para a neurodegenerescência (Bettcher & Kramer, 2013; Rocha, Martins, Teixeira, & Reis, 2011).

3.5 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) foi descrita pela primeira vez em 1817 pelo clínico inglês James Parkinson. Esta, nos dias de hoje, é considerada uma doença neurodegenerativa de caráter crónico e progressivo que afeta o sistema motor. Clinicamente é caracterizada por tremor de repouso, rigidez, acinesia (que inclui bradicinesia, hipocinesia e decremento) e instabilidade postural. A perda acentuada de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta* (SNpc) com a consequente diminuição de dopamina e a presença de inclusões intraneuronais ricas em α -sinucleína e ubiquitina também denominadas por corpos de Lewy são as suas principais marcas neuropatológicas (**Figura 6**) (Kalia, Lang, & Shulman, 2015; Massano, 2011).

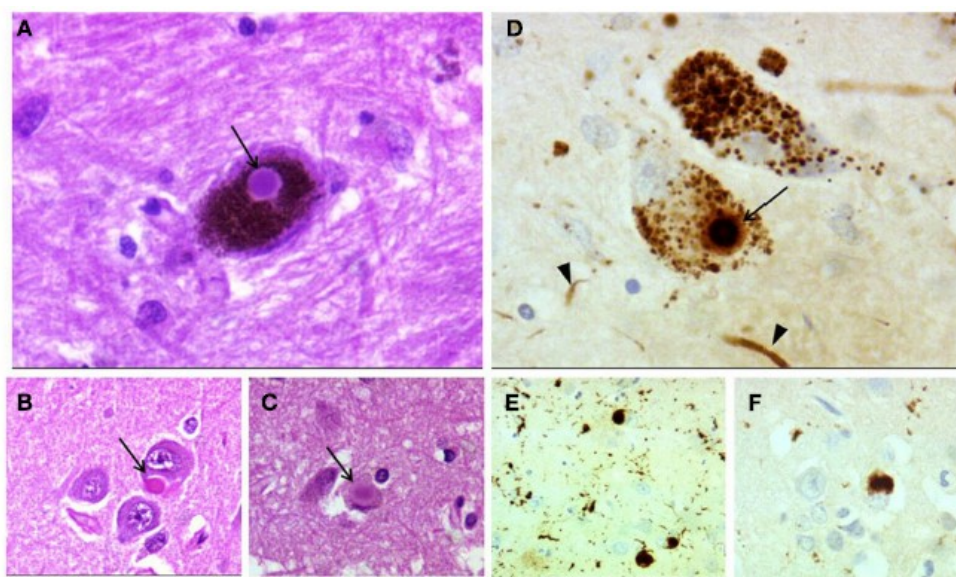


Figura 6- Neuropatologia da doença de Parkinson. (A) Corpo de Lewy (seta) num neurónio da SNpc, no hipocampo (B), e no córtex (C) – coloração hematoxilina-eosina 400x. (D) Corpo de Lewy (seta) e neurite de Lewy (cabeça da seta) na SNpc. (E) e (F) Corpos de Lewy no córtex cerebral. (D-F) Marcados imunologicamente com anticorpo da proteína α -sinucleína, 400x. (Taipa *et al.*, 2012)

A DP é a forma mais comum de Parkinsonismo e é a segunda doença neurodegenerativa mais comum (Massano, 2011). Estima-se que 1 % da população mundial com mais de 65 anos padece desta doença, sendo que só em Portugal estão identificados cerca de 18 mil casos (Melrose, Perroy, & Careas, 2015).

A etiologia da doença ainda não é completamente conhecida, no entanto, pensa-se que resulta de uma complexa interação entre fatores genéticos, ambientais e a idade que poderão desencadear diferentes processos patológicos, como a disfunção mitocondrial,

inflamação, *stress* oxidativo, excitotoxicidade que posteriormente levarão à morte neuronal (Massano, 2011). A maior parte dos casos de DP, cerca de 90 % tem origem esporádica desconhecida sendo que apenas 5% a 10% estão ligados a fatores genéticos. Na DP idiopática considera-se que o maior fator de risco é o envelhecimento, no entanto cada vez mais estão associados outros fatores ambientais que poderão levar à morte dos neurónios dopaminérgicos, causando sintomas semelhantes aos da DP (Melrose *et al.*, 2015). Vários estudos epidemiológicos mostraram que a exposição a determinados metais pesados e agentes tóxicos poderão levar ao desenvolvimento da doença. Um exemplo é o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), um agente ambiental tóxico, cuja implicação no desenvolvimento de parkinsonismo está comprovada. O MPTP é capaz de induzir os sintomas motores que estão inerentes à doença, pois causa degenerescência dos neurónios do sistema nigro-estriatal levando à morte dos neurónios dopaminérgicos (Melrose *et al.*, 2015; Werneck, 2010).

No que diz respeito aos fatores genéticos, estes representam a minoria dos casos de DP, no entanto já foram identificadas mutações genéticas que levam ao aparecimento da patologia, nomeadamente mutações no gene que codifica a proteína α -sinucleína, que é o principal constituinte dos corpos de Lewy e no gene *leucine-rich repeat kinase 2* (LRRK2) (Kalia *et al.*, 2015).

A principal manifestação clínica que se prende na DP é o parkinsonismo consequência do comprometimento da via dopaminérgica nigro-estriatal. O parkinsonismo é caracterizado como um dos mais frequentes distúrbios do movimento e este envolve quatro sinais básicos: acinesia, rigidez, tremor de repouso e instabilidade postural que podem levar a alterações da marcha (Kalia *et al.*, 2015; Massano, 2011; Melrose *et al.*, 2015; Souza *et al.*, 2011; Werneck, 2010). Estima-se que estes sintomas motores característicos da DP surjam quando a degenerescência dos neurónios dopaminérgicos ronde os 60-80% (Melrose *et al.*, 2015). Diversos estudos clinico-patológicos sugerem também, que a deposição dos corpos de Lewy se correlaciona com a progressão da doença, iniciando-se muito provavelmente antes do começo dos sintomas motores (Kalia *et al.*, 2015; Taipa, Pinho, & Melo-Pires, 2012). Para além das manifestações motoras típicas, os doentes com DP apresentam sintomas não motores como alterações cognitivas, nomeadamente demências, perturbações comportamentais que incluem a depressão, apatia, alucinações, ansiedade, alterações do sono, alterações da sensibilidade dolorosa,

alterações sexuais e disfunções autonómicas (Massano, 2011; Melorose *et al.*, 2015; Souza *et al.*, 2011; Werneck, 2010).

Relativamente ao diagnóstico, este é essencialmente clínico e é efetuado com base na presença de um síndrome acínético-rígido, nomeadamente na presença de acinesia simultaneamente, com pelo menos um dos outros sinais (rigidez muscular, tremor em repouso e instabilidade postural). A instabilidade clínica é uma manifestação da doença que surge numa fase mais avançada da doença. Os critérios de diagnóstico utilizados pertencem à *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank* e assentam em manifestações clínicas da doença concomitantemente com critérios de exclusão para outras patologias (Kalia *et al.*, 2015; Massano, 2011). Estes critérios apresentam uma sensibilidade de 90,4% e uma especificidade de 98,1% (Massano, 2011). Muitos esforços têm sido efetuados para descobrir testes de diagnóstico que permitam a deteção da doença em fases mais precoces, contudo o diagnóstico definitivo da DP ainda se prende com a extensa degenerescência dos neurónios dopaminérgicos da SNpc e na presença de patologias de Lewy na análise patológica *post mortem* (Kalia *et al.*, 2015).

3.6 Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória auto-imune crónica com características neurodegenerativas que atinge o sistema nervoso central. Esta é caracterizada pela presença de múltiplas placas desmielinizantes acompanhadas de inflamação em inúmeras áreas no cérebro e da medula espinal, particularmente na substância branca e no córtex desencadeando degenerescência axonal e neuronal. As lesões na bainha de mielina dos axónios levam a uma deficiência ou perda completa da transmissão do impulso nervoso o que conduz à degradação das funções neurológicas e ao aparecimento de sinais e sintomas, que se agravam com a progressão da doença (Compston & Coles, 2002; Fundação Calouste Gulbenkian, 2015; Julien & Ferrer, 2015; Milo & Miller, 2014).

A etiologia da EM ainda não está totalmente esclarecida, no entanto sabe-se que advém de uma complexa interação entre uma predisposição genética com fatores ambientais que conduzem a uma disfunção no sistema imune. O sistema imunitário perde a capacidade de reconhecer as células do próprio corpo criando fenómenos de autoimunidade que tem como principal alvo as bainhas de mielina subjacentes aos axónios e os oligodendrócitos (Compston & Coles, 2002; Fundação Calouste Gulbenkian, 2015; Julien & Ferrer, 2015).

No que diz respeito à epidemiologia, a EM apresenta uma maior prevalência em adultos jovens, sendo que o aparecimento dos primeiros sintomas surge em cerca 70% de doentes que se enquadram numa faixa etária dos 20 aos 40 anos. As manifestações de EM em idades mais precoces e/ou tardias são extremamente raras, pelo que esta patologia é considerada a causa mais frequente de incapacidade neurológica no adulto jovem a seguir a causas traumáticas. Para além disso, estudos epidemiológicos mostram que a incidência de EM é três vezes maior no sexo feminino. A nível global estima-se que existam cerca de 2,5 milhões de indivíduos que padecem de esclerose múltipla, no entanto a sua distribuição não é considerada homogénea variando consoante a região geográfica (Abreu, Mendonça, Guimarães, & Sá, 2012; Compston & Coles, 2002; Milo & Miller, 2014; Sá, 2012). Em Portugal estima-se que existam mais de 5 mil pessoas portadores de EM (Fundação Calouste Gulbenkian, 2015).

Como o impacto sobre o SNC é politópico, as manifestações clínicas são muito variadas como por exemplo: visuais (pelo envolvimento do nervo óptico, nomeadamente na sequência de uma nevrite óptica), descoordenação motora, alteração da força muscular

ou da sensibilidade, disfunções urinárias e intestinais, declínio cognitivo e alterações psicológicas (Abreu *et al.*, 2012; Compston & Coles, 2002; Sá, 2012). A EM pode assumir três formas clínicas: a Esclerose Múltipla Surto-Remissiva (EMSR), esta é a forma mais comum de EM e caracteriza-se por surtos episódicos sintomáticos em que poderá haver recuperação total ou parcial. A EMSR pode evoluir para a forma de Esclerose Múltipla Progressiva Secundária (EMPS), onde a recuperação não é completa, o que resulta numa degradação progressiva do SNC. A Esclerose Múltipla Progressiva Primária (EMPP) é a forma clínica de EM menos comum, e compreende a gradual progressão da doença sem surtos episódicos ou remissões (Compston & Coles, 2002; Julien & Ferrer, 2015).

4. Agentes Infeciosos e as Doenças Neurodegenerativas

Apesar da incessante pesquisa, os mecanismos moleculares que levam ao desenvolvimento das doenças neurodegenerativas continuam pouco esclarecedores. Recentemente, o crescente número de estudos emergentes epidemiológicos e experimentais apontam para mais uma hipótese que contempla uma etiologia patogénica (Zhou *et al.*, 2013). Embora ainda controversa, existem evidências que compreendem a possibilidade de uma infeção crónica bacteriana ou viral ser um fator de risco para as doenças neurodegenerativas, tais como, a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP), a esclerose múltipla (EM) e a esclerose lateral amiotrófica (ELA) entre muitas outras (De Chiara *et al.*, 2012; R. F. Itzhaki, Wozniak, Appelt, & Balin, 2004; Nicolson & Haier, 2009; Zhou *et al.*, 2013).

Alguns estudos demonstram que a grande parte dos pacientes que sofrem de alguma condição neurodegenerativa, apresentam uma infeção viral ou bacteriana, seja a nível do SNC ou de carácter sistémico (Nicolson & Haier, 2009). Apesar da maior parte das correlações entre os agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas não terem um fundamento conclusivo, existem vários estudos e dados empíricos que sugerem o envolvimento do herpesvírus simples do tipo 1 (HSV-1) e da *Chlamydia pneumoniae* na etiopatogénese na doença do Alzheimer (R. F. Itzhaki *et al.*, 2004), bem como, a associação da doença de Parkinson ao vírus influenza ou à *Helicobacter pylori*, por exemplo (Mattson, 2004). A esclerose múltipla também tem sido relacionada com infeções crónicas provocadas por vírus da família *Herpesviridae*, como o herpesvírus simples, o vírus da Varicela-Zoster, o vírus Epstein-Barr, o citomegalovírus e o herpesvírus do tipo 6, assim como outras infeções bacterianas (Nicolson & Haier, 2009). Alguns dados experimentais sugerem ainda, o envolvimento dos enterovírus e dos herpesvírus na causa da esclerose lateral amiotrófica (Mattson, 2004).

As infeções do SNC, particularmente as infeções crónicas e de curso progressivo, podem ser responsáveis por danificar as funções e a viabilidade neurológica (De Chiara *et al.*, 2012). Sabe-se que os microrganismos neurotrópicos podem causar efeitos assoladores provocando alterações e degeneração dos neurónios indiretamente, através da ativação de processos inflamatórios e da resposta do sistema imune do hospedeiro, bem como diretamente através de mecanismos neurotóxicos levando à morte direta dos neurónios, à lise celular ou por indução da apoptose (De Chiara *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2013). Para

além disso, existem algumas evidências que os microrganismos neurotrópicos podem gerar marcas moleculares patogénicas intracelulares características da neurodegenerescência, nomeadamente a formação e a deposição de proteínas *misfolded*, disfunção mitocondrial e sináptica, *stress* oxidativo, um processo autofágico deficiente e neuroinflamação.

Estes fatos aliados a outros tantos fatores de risco, como a idade, a saúde em geral, a existência de doenças concomitantes e o próprio fundo genético podem ser uma possível causa para o aparecimento de doenças neurodegenerativas (De Chiara *et al.*, 2012).

4.1 Mecanismos de Neuroinvasão

O SNC está protegido por barreiras físicas que restringem o acesso de agentes infecciosos. A barreira hematoencefálica (BHE) é uma estrutura com uma permeabilidade extremamente seletiva, sendo o principal sistema de neuroprotecção do SNC contra substâncias neurotóxicas presentes no sangue. Esta é composta por um sistema de filtração neurovascular constituído por células endoteliais firmemente apertadas que se conectam através de *tight junctions* (Salinas, Schiavo, & Kremer, 2010). No entanto, alguns microrganismos neurotrópicos, de natureza vírica, bacteriana, protozoária ou até mesmo agentes patogénicos, como as proteínas priónicas desenvolveram estratégias de modo a alcançarem o SNC. Os microrganismos neurotrópicos detêm a capacidade de causar infeções agudas que por um lado, podem ser fatais, ou então podem progressivamente conduzir ao surgimento de patologias crónicas (De Chiara *et al.*, 2012). Para atingir o SNC, estes agentes patogénicos têm que contornar a parede de células endoteliais e perturbar a BHE, que é considerada a primeira linha de defesa contra uma possível neuroinvasão (Salinas *et al.*, 2010). Os mecanismos de neuroinvasão ainda não estão bem definidos, contudo na literatura é sugerido duas vias principais de entrada dos microrganismos no SNC: a disseminação hematogénica e o transporte axonal a partir dos neurónios periféricos (**Figura 7**) (De Chiara *et al.*, 2012; Kristensson, 2011; Salinas *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2013). A hipótese de disseminação hematogénica propõe que os agentes patogénicos entram no cérebro devido à disrupção da barreira hematoencefálica através de diversos mecanismos, que incluem o processo de transcitose por meio de células endoteliais infetadas, a passagem direta para o líquido cefalorraquidiano (LCR) através dos capilares porosos do plexo coroideu ou através de células infetadas do sistema imunitário que têm a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Zhou *et al.*, 2013). Este último mecanismo, também conhecido por “*Trojan Horse*” ou em português “Cavalo de Tróia” é caracterizado pela entrada de microrganismos no SNC, a partir de leucócitos, ou outras células do sistema imunitário infetados, o que permite ao agente infeccioso não ser detetado pelo sistema imune e deslocar-se da corrente sanguínea até ao cérebro. Quando chega ao cérebro, dá-se uma resposta inflamatória com libertação de mediadores pró-inflamatórios que são ativados devido à infeção sistémica causada pelos leucócitos infetados. Esta resposta inflamatória amplifica a invasão dos microrganismos ao SNC e facilita a sua entrada através da barreira hematoencefálica. O mecanismo “*Trojan Horse*” é uma hipótese que tenta explicar uma via de entrada de microrganismos

no SNC e tem sido, especialmente documentada em infecções com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que ao alcançarem o cérebro, podem conduzir a um estado de demência (Dahm et al., 2016; Dando et al., 2014; Nicolson & Haier, 2009; Salinas et al., 2010; Zhou et al., 2013).

Uma outra hipótese de via de entrada de agentes patogénicos no SNC centra-se no transporte axonal a partir dos neurónios periféricos. As terminações nervosas periféricas situadas na pele e em diferentes mucosas medeiam a entrada de vírus ou outros agentes infecciosos no SNC. Consoante o microrganismo e a expressão diferencial dos seus recetores, os diferentes microrganismos neurotrópicos terão maior apetência para um tipo específico de terminação nervosa periférica, seja ela sensorial, motora ou olfativa (Dahm et al., 2016; De Chiara et al., 2012). No caso de neurotropismo viral, os vírus ao infetarem as terminações periféricas nervosas valem-se das suas componentes celulares nomeadamente, dos microtúbulos axonais para se deslocarem das terminações do axónio para o corpo celular do neurónio. Este mecanismo é denominado de transporte axonal retrógrado. Os vírus necessitam de alcançar o corpo celular neuronal, pois é lá que se encontra os organelos celulares necessários para a sua replicação e propagação (Dahm et al., 2016; McGavern & Kang, 2011).

O herpesvírus simples do tipo 1 (HSV-1) é um exemplo de um vírus neurotrópico. O HSV-1 ao infetar o endotélio nasal e/ou oral, tem a capacidade de se deslocar através do transporte axonal retrógrado para o bulbo olfativo e o gânglio do nervo trigémeo, respetivamente. Por um lado, o HSV-1 pode estabelecer uma infeção latente. Esta infeção, mais tarde pode vir a ser reativada conduzindo à síntese de novos viriões infecciosos que através do transporte axonal anterógrado, podem voltar ao local de infeção primário e manifestar-se através da formação de novas vesículas na pele e nas mucosas ou através do transporte axonal retrógrado podem invadir o SNC, em particular o sistema límbico do qual faz parte o hipocampo, o tálamo e a amígdala. Por outro lado, pode invadir rapidamente o SNC. Para além do HSV-1, outros vírus, como o vírus da raiva, o vírus *influenza* e o vírus *parainfluenza* têm sido mencionados como neurotrópicos, pois parece que também alcançam o SNC através da via olfativa (Dahm et al., 2016; De Chiara et al., 2012). Kristensson (2011), refere também que microrganismos bacterianos, como os pneumococos e a ameba *Naegleria fowleri* são frequentemente encontrados na cavidade nasal e através da mucosa olfativa podem, potencialmente, alcançar o espaço subaracnoídeo e provocar meningite. É assim pertinente salientar que o bulbo olfativo é

uma ponte entre o ambiente periférico e o SNC, já que as dendrites dos neurónios olfativos entram em contacto direto com o ambiente externo e os axónios estão em contacto direto com o cérebro através do bulbo olfativo (Kristensson, 2011). Segundo Zhou *et al.* (2013), uma estirpe específica do vírus *influenza* (A/WSN/33) é, não só capaz de invadir o SNC através do epitélio olfativo, como também através de nervos cranianos como o nervo vago e o nervo trigêmeo. Recentemente, foi apontado que o vírus da raiva e o herpesvírus do tipo 6 também entram no SNC através desta via (Zhou *et al.*, 2013). Os vírus foram encontrados nas regiões inervadas pelos nervos cranianos I, V e X, nervo olfativo, nervo trigêmeo e nervo vago, respetivamente, após uma infeção intranasal em modelos animais. Ao entrarem no SNC, os microrganismos promovem a sua disseminação célula a célula, infetando as células vizinhas assim como, se valem do sistema sináptico para se propagarem extensivamente no cérebro (De Chiara *et al.*, 2012).

Da invasão e consecutiva disseminação de agentes patogénicos no SNC pode resultar uma infeção aguda, caracterizada por períodos de latência intercalados com períodos de reativação infecciosa, ou uma infeção constante de carácter crónico e cumulativo. O tipo de infeção varia consoante o tipo de agente patogénico, a resposta imune/inflamatória desencadeada pelo hospedeiro, a região do SNC afetada e a presença de doenças concomitantes (Dando *et al.*, 2014; De Chiara *et al.*, 2012).

No caso das doenças neurodegenerativas, a idade é o maior fator de risco. Do envelhecimento normal advém diversas alterações funcionais, sendo uma delas o decaimento da função imunitária. É notório, que as pessoas idosas acarretam um aumento da vulnerabilidade a agentes infecciosos capazes de causar processos inflamatórios e posteriormente, degenerescência neuronal uma vez que o SNC é particularmente vulnerável a estes agentes, durante o processo de envelhecimento. De facto, o envelhecimento é acompanhado pelo comprometimento da barreira hematoencefálica e dos mecanismos celulares imunes, o que pode resultar da entrada dos agentes infecciosos no SNC sem serem detetados, assim como o aumento de *stress* oxidativo, disfunção na produção de energia e a perturbação das vias de sinalização neuronais inerentes ao envelhecimento podem tornar os neurónios mais suscetíveis à toxicidade dos agentes infecciosos (De Chiara *et al.*, 2012; Mattson, 2004; Zhou *et al.*, 2013). Nos últimos anos, a relação entre os agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas tornou-se relevante, pois cada vez mais, há evidências que certas infeções que ocorreram no passado podem ser um fator de risco e com o envelhecimento do organismo desencadeiam diversos

mecanismos que podem levar ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (Nicolson & Haier, 2009).

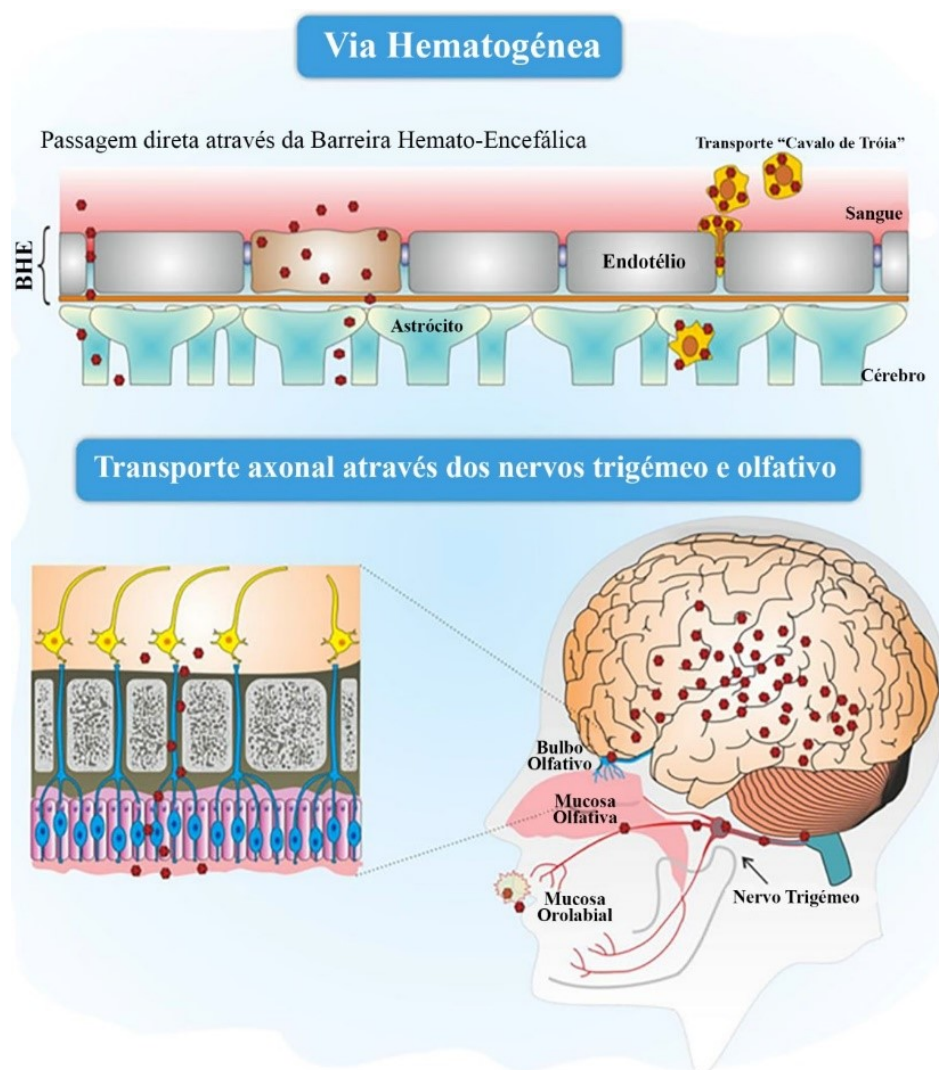


Figura 7- Mecanismos adotados pelos agentes infecciosos de forma a alcançarem o SNC. Adaptado de (De Chiara *et al.*, 2012).

4.2 Doença do Alzheimer e o Herpesvírus Simples 1 (HSV-1)

Como descrito no capítulo anterior, a doença de Alzheimer é a principal causa de demência com uma etiologia multifatorial que ainda não é totalmente conhecida. Esta é caracterizada por uma perda severa de memória e um acentuado declínio cognitivo. Sabe-se que os cérebros dos pacientes com DA apresentam duas características neuropatológicas principais, as placas amilóides, que contêm essencialmente o péptido β -amilóide ($A\beta$), uma proteína que se pensa ser neurotóxica quando está na sua forma insolúvel ou oligomérica e os entrançados neurofibrilhares, que compreendem uma acumulação de filamentos anormais associados à proteína tau (Zhou *et al.*, 2013). Nas últimas décadas houve grandes avanços a respeito das possíveis componentes patológicas inerentes à doença do Alzheimer, no entanto, o conhecimento dos mecanismos que desencadeiam a doença ainda são bastante limitados. Recentemente, vários estudos sugerem que algumas infecções virais do SNC podem ter um possível papel na patogénese ou na progressão da doença do Alzheimer, sendo um provável cofator da mesma. Vários vírus têm sido correlacionados à doença de Alzheimer, porém o HSV-1 é o menos controverso e com mais estudos epidemiológicos, imunológicos e moleculares associados que corroboram esta hipótese (Piacentini *et al.*, 2014). O herpesvírus humano 1 também conhecido como herpesvírus simples 1 (HSV-1) pertence à família *Herpesviridae* e está incluído na subfamília *Alphaherpesviridae*. A família *Herpesviridae* é considerada uma das famílias que apresenta o maior número de espécies patogénicas para o Homem e todos eles estão associados a uma infeção crónica e persistente, que se mantém ao longo da vida do hospedeiro. Estima-se que o HSV-1 seja um dos vírus mais comuns na população em geral.

Os primeiros dados oficiais que coligam o HSV-1 e a doença do Alzheimer remontam aos anos 80 e estes são baseados em observações simples que incluem a observação de indivíduos com encefalite herpética que mostram características clínicas, como por exemplo, a perda de memória e regiões do cérebro afetadas semelhantes às envolvidas na DA (Piacentini *et al.*, 2014). Um outro argumento para esta ligação foi as próprias características do vírus, visto que se trata de um vírus neurotrópico ubiquitário, com uma prevalência a nível mundial na ordem dos 56% a 85%, bem como a sua capacidade neuroinvasiva capaz de estabelecer uma infeção latente nos neurónios durante toda a vida do hospedeiro (De Chiara *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2013). Desde então vários estudos

epidemiológicos foram efetuados de modo a comprovar a presença do HSV-1 ou do seu genoma no cérebro de pacientes diagnosticados com Alzheimer, sendo que a maior parte deu um resultado positivo, nomeadamente para indivíduos que expressam o alelo 4 do gene que codifica a apolipoproteína do tipo E (APOE4), sendo este um outro fator de risco para o aparecimento da DA (De Chiara *et al.*, 2012). Itzhaki *et al.* (1997) demonstrou através do método de reação da polimerase em cadeia (PCR), que a incidência de HSV-1 no cérebro de doentes com DA é muito maior (52,8%) quando estes expressam o alelo APOE4 comparativamente a outros grupos de doentes (Ruth F Itzhaki *et al.*, 1997). Vários estudos associam o HSV-1 e a proteína β -amilóide, nomeadamente um estudo conduzido por Wozniak *et al.*, que localizou DNA viral nas placas amilóides. Este estudo incidiu em cérebros de pacientes com DA e em cérebros de pacientes com uma elevada faixa etária, sendo que houve uma maior associação entre o DNA do HSV-1 e as placas amilóides nos cérebros dos doentes com DA, sugerindo que o HSV-1 é uma possível causa para o aparecimento das placas amilóides, que tanto caracterizam a doença de Alzheimer (Wozniak *et al.*, 2009; Wozniak, Itzhaki, Shipley, & Dobson, 2007). De Chiara *et al.* (2010) demonstrou que uma infeção por HSV-1 pode intervir no processamento da PPA. Os autores referem que o vírus é capaz de desencadear a clivagem da PPA pela via amiloidogénica, resultando num aumento da formação de péptido A β na forma monomérica e oligomérica e a sua consequente deposição amilóide em placas neuríticas, que são potencialmente neurotóxicas. Para além das evidências já mencionadas, Cribbs e os seus colaboradores mostraram que o péptido amilóide possui uma sequência homóloga à glicoproteína B do HSV-1. Posto isto, vários investigadores têm sugerido que esta proteína viral pode atuar como “semente” para a deposição da proteína A β em placas amilóides (Cribbs, Azizeh, Cotman, & LaFerla, 2000; De Chiara *et al.*, 2012).

Além dos estudos moleculares experimentais que relacionam o HSV-1 e a proteína A β , tem sido demonstrado empiricamente que o vírus também pode ter um papel crítico na hiperfosforilação da proteína tau e na consequente destabilização dos microtúbulos axonais. Foi demonstrado através de culturas celulares de neurónios corticais infetadas com HSV-1 em modelos animais, que o vírus está associado à hiperfosforilação da proteína tau (De Chiara *et al.*, 2012). De acordo, com a investigação mediada por Wozniak, Frost e Itzhaki, o HSV-1 é capaz de fosforilar a proteína tau nos mesmos locais em que ela aparece hiperfosforilada em doentes com DA (Wozniak, Frost, & Itzhaki, 2009).

Vários estudos imunológicos tentam igualmente demonstrar a relação entre o HSV-1 e a doença de Alzheimer. Estes estudos procuram marcas imunológicas da presença do vírus no sangue de pacientes com DA, marcas essas que compreendem anticorpos IgM e IgG anti-HSV, onde os anticorpos IgM anti-HSV estão associados a uma infecção primária ou a uma reativação recente do vírus, enquanto os anticorpos IgG anti-HSV apenas mostram que uma pessoa foi infetada com vírus (Ruth F. Itzhaki, 2014; Piacentini *et al.*, 2014). Garrigue e colaboradores, demonstraram através de um estudo longitudinal em 512 idosos, que a presença de anticorpos IgM anti-HSV está relacionada com a ocorrência de DA, e que o mesmo não se verificou com os anticorpos positivos IgG anti-HSV (Garrigue *et al.*, 2008). Outros estudos imunológicos que associam a DA com o HSV-1 remetem para uma conclusão semelhante, que indica que indivíduos com anticorpos IgM anti-HSV, isto é, indivíduos que sofreram uma reativação recente do vírus latente, apresentam quase o dobro do risco de desenvolver DA (Ruth F. Itzhaki, 2014). Estes resultados suportam a teoria que a reativação do HSV-1 que se encontrava latente no cérebro de indivíduos idosos, acompanhada simultaneamente da sua reativação no SNP, devido a condições de *stress*, imunossupressão ou devido a uma infecção periférica, por exemplo, levam a perturbações deletérias cumulativas, que eventualmente podem culminar no desenvolvimento da DA (Ruth F. Itzhaki, 2014; Piacentini *et al.*, 2014).

Estudos genéticos conduzidos pela *Genome-Wide Association Studies* (GWAS) correlacionaram a suscetibilidade individual a uma infecção no SNC por parte do HSV-1 com fatores de risco genéticos inerentes à DA. De facto, já foram identificados algumas variantes genéticas ligadas à DA que parecem aumentar a suscetibilidade a infeções virais, como por exemplo, o gene que codifica para a apolipoproteína E (APOE). A APOE, nomeadamente a sua variante alélica $\epsilon 4$ é o maior fator de risco conhecido de DA esporádica e parece estar implicado na vulnerabilidade individual a infeções virais. Vários estudos associam o HSV-1 e a APOE- $\epsilon 4$ com o aumento significativo do risco para desenvolver DA, assim como mencionam que a APOE influencia o resultado de diferentes infeções. Foi demonstrado, através de modelos animais, que a presença de APOE- $\epsilon 4$ influencia a carga viral no cérebro e um estudo subsequente mostrou que a APOE- $\epsilon 4$ é mais eficaz na colonização viral do cérebro do que a APOE- $\epsilon 3$. Para além da variante alélica $\epsilon 4$ da APOE, parece que outros genes e proteínas implicados na DA interagem com o genoma viral assim como na regulação do ciclo de vida do HSV-1, o que pode resultar na modulação da suscetibilidade individual a uma infecção no SNC por

HSV-1 e dos danos cerebrais que conduzem à neurodegenerescência subjacentes a esta (De Chiara *et al.*, 2012; Ruth F. Itzhaki, 2014; Piacentini *et al.*, 2014).

O número de estudos e evidências epidemiológicas, moleculares, imunológicas e genéticas que associam a DA com o HSV-1 é crescente e a prova desta associação é uma realidade emergente. Apesar de ainda ser um assunto controverso, as diversas evidências já mencionadas, mostram que infecções provocadas pelo herpesvírus simples do tipo 1 são um fator de risco ou no mínimo, um cofator para o desenvolvimento da DA (Nicolson & Haier, 2009; Zhou et al., 2013).

4.3 *Chlamydophila pneumoniae* e a doença de Alzheimer

Outro microrganismo que nos últimos anos têm sido associado à DA é a *Chlamydophila pneumoniae*. A *C. pneumoniae* pertence à família Chlamydiaceae e é uma bactéria Gram-negativa. Esta, é considerada um agente bacteriano intracelular obrigatório, que afeta o trato respiratório humano e é um dos principais agentes causadores de pneumonia bacteriana e outras infecções do trato respiratório superior (B J Balin *et al.*, 2008). A infecção da mucosa oral e/ou nasal do trato respiratório é a principal porta da entrada da *C. pneumoniae* no organismo, contudo o mecanismo exato que leva a bactéria a provocar uma infecção sistêmica e subsequente invasão do SNC ainda não está totalmente esclarecido. Porém, várias evidências inclusive evidências que associam a DA e a *C.pneumoniae*, mostram que a bactéria é capaz de infectar macrófagos e monócitos, e pensa-se que é através destas células que esta se propaga sistemicamente por todo o organismo e alcança o SNC. Uma outra hipótese prende-se com sua a entrada no SNC através do bulbo olfativo, uma vez que a *C. pneumoniae* é um microrganismo patogénico que infeta o trato respiratório superior (B J Balin *et al.*, 2008; R. F. Itzhaki *et al.*, 2004)

A primeira ligação entre a DA e a *Chlamydophila pneumoniae* ocorreu em 1998, quando Balin em conjunto com outros investigadores identificaram, através da técnica de PCR a presença de genoma da bactéria *C. pneumoniae* em 90% dos cérebros com DA esporádico *post mortem* analisados, particularmente nas regiões cerebrais mais afetadas pela doença, como o hipocampo e o córtex. Aliado a estes resultados, as análises demonstraram que apenas 5% dos cérebros *post mortem*, que pertenciam ao grupo controlo, isto é, não sofriam de DA continham DNA da bactéria. No mesmo estudo, para além da técnica de PCR foram implementados outros métodos experimentais para verificar a presença de antígenos da bactéria *C. pneumoniae*, assim como a presença de microrganismos viáveis em amostras de tecidos cerebrais de indivíduos com DA esporádico e de indivíduos controlo. Através de uma análise imuno-histoquímica, verificou-se que as amostras de tecido cerebral com DA esporádico continham antígenos para a *C. pneumoniae*, nomeadamente no hipocampo e no córtex cerebral, as regiões do SNC caracteristicamente afetadas pela DA; células da microglia, astrócitos, macrófagos e monócitos também apresentaram imuno-positividade para o microrganismo. Além disso, os investigadores utilizaram a microscopia eletrónica para analisar as amostras de tecido cerebral com DA e revelaram a presença de inclusões metabolicamente ativas da bactéria. A partir destes

resultados, verificou-se que a *Chlamydia pneumoniae* está presente, é viável e ativa em áreas do cérebro características da neuropatogénese da DA, sugerindo assim, que uma infecção por parte desta bactéria poderá ser um fator de risco para a DA de início tardio (B J Balin *et al.*, 2008; Brian J Balin *et al.*, 1998).

Estudos a partir de modelos animais, realizados por Little, Hammond, MacIntyre, Balin e Appelt (2004), evidenciaram depósitos amilóides que se assemelham às placas neuríticas encontradas na doença de Alzheimer nos cérebros de ratinhos após a infecção intranasal com *Chlamydia pneumoniae* (isolada de cérebros *post mortem* de doentes com DA). A infecção foi confirmada pela presença de antígenos da bactéria por microscopia de luz e eletrónica no epitélio e no bulbo olfativo dos ratos. A análise patológica ao cérebro dos ratos revelou uma acumulação da proteína A β ₄₂ em placas amilóides semelhantes às encontradas nos cérebros de pessoas que sofrem de DA. Os autores também sugerem a presença de uma resposta inflamatória, pois há evidência de astrócitos reativos localizados perto dos depósitos amilóides. Este modelo animal suporta, então a hipótese da *C. pneumoniae* desempenhar um papel crítico na aceleração ou indução de neuropatologias, como os depósitos amilóides, características da doença ou até mesmo ser o fator desencadeador da patogénese da DA esporádica (Little, Hammond, Macintyre, Balin, & Appelt, 2004). Por outro lado, também suporta alguns dados que sugerem que o péptido A β tem atividade antimicrobiana e pode atuar como um mecanismo de defesa contra os agentes infecciosos. Estes estudos suportam a teoria que os agentes infecciosos estão envolvidos na neuropatogénese e na etiologia da DA, no sentido que propõem que a produção excessiva da proteína A β , como péptidos antimicrobianos (AMP), e a subsequente formação e acumulação de placas neuríticas é uma consequência defensiva e uma tentativa de eliminar os agentes patogénicos (B J Balin *et al.*, 2008; Soscia *et al.*, 2010).

Mais recentemente, um estudo conduzido por Hammond *et al.* corroborou a teoria que a *C. pneumoniae* poderia estar envolvida na patogénese da DA. Neste estudo, através de métodos imuno-histoquímicos, os investigadores detetaram a presença de antígenos da *C.pneumoniae*, quer intracelularmente nos neurónios, nas células da glia e nas células endoteliais, quer extracelularmente no córtex frontal e temporal de cérebros com DA. Adicionalmente, os autores mencionaram que esta imunoreatividade, devido à presença de antígenos da bactéria, foi detetada nas mesmas regiões onde se encontram os depósitos

da proteína A β , as placas neuríticas e os entrançados neurofibrilares (Hammond *et al.*, 2010).

No entanto, o papel da *C. pneumoniae* na neuropatogénese da DA é controverso, pois existem dados que negam qualquer associação. Por exemplo, os investigadores Ring e Lyons concluíram que a *Chlamydophila pneumoniae* não está, de nenhuma forma, associada com a neuropatologia observada na doença de Alzheimer. Os investigadores, a partir de tecido cerebral *post mortem* de pacientes diagnosticados com DA esporádico de várias regiões do cérebro, incluindo as áreas mais afetadas pela DA, testaram a presença de DNA de *C. pneumoniae* em 101 amostras utilizando a técnica de PCR. O resultado foi negativo e não foi possível detetar genoma de *Chlamydophila pneumoniae* em qualquer uma das 101 amostras testadas por PCR, assim como a bactéria não cresceu em culturas a partir de amostras de tecido cerebral (Ring & Lyons, 2000).

4.4 Vírus Influenza e a doença de Parkinson

Tal como foi acima referido, a doença de Parkinson é caracterizada clinicamente por sintomas motores que compreendem acinesia, rigidez muscular e tremor em repouso. Concomitantemente com os sintomas motores, na DP também estão presentes manifestações clínicas não motoras que incluem disfunção autonómica, distúrbios olfativos, sensitivos e de sono e frequentemente é acompanhada de depressão e demência. A marca primária da patologia da DP prende-se com perda progressiva de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta*, juntamente com a presença de corpos de Lewy ricos em α -sinucleína. No entanto, a etiologia da grande parte dos casos de DP continua desconhecida apesar de todos os esforços investidos neste sentido. A comunidade científica crê que a DP é uma doença neurodegenerativa de cariz multifatorial, resultante de uma interação entre fatores ambientais, predisposição genética e envelhecimento neuronal (Kalia *et al.*, 2015). De facto, é sugerido na literatura que uma exposição numa idade mais precoce a fatores neurotóxicos, como lesões cerebrais, exposição prolongada a substâncias neurotóxicas químicas ou a contração de infeções poderão desencadear um processo inflamatório cíclico que provoca danos oxidativos, disfunção mitocondrial, excitotoxicidade e alterações nos processos proteolíticos que simultaneamente com a longevidade resultam na perda dos neurónios dopaminérgicos da SNpc (Nicolson & Haier, 2009).

Um possível papel de certas infeções na patogénese da DP tem sido proposto, e o vírus Influenza parece estar ligado à doença (De Chiara *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2013). O vírus Influenza ou o vírus da gripe, como é comumente conhecido, pertence à família Orthomyxoviridae e é subdividido em três tipos: A, B e C sendo que o subtipo A e B apresentam uma maior relevância clínica em humanos, pois são os principais responsáveis pelas epidemias sazonais. Este vírus provoca uma doença infecciosa aguda que atinge o trato respiratório e estima-se que o vírus Influenza, anualmente, seja responsável pela morte de meio milhão de pessoas a nível mundial (World Health Organization, 2013). Para além das epidemias sazonais que ocorrem todos os anos, o vírus já provocou 5 pandemias, em que a mais grave ocorreu em 1918 causada pelo subtipo H1N1 do vírus influenza A. Esta pandemia ficou conhecida como “gripe espanhola” e estima-se que tenha vitimado entre 20 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo (Zhou *et al.*, 2013).

A associação entre a etiologia da DP e o vírus Influenza é baseada, maioritariamente, em descrições clínicas e em estudos epidemiológicos e surgiu, pela primeira vez, depois de um surto de encefalite letárgica e parkinsonismo pós-encefáltico, que ocorreu sequencialmente com a gripe espanhola de 1918. No entanto, a associação entre o vírus influenza e a DP é bastante controversa. Apesar de haver dados que mostram que a encefalite letárgica pode ser um efeito secundário de uma infecção por vírus influenza, esta ligação não está comprovada (De Chiara *et al.*, 2012). Esta associação prende-se maioritariamente com os vários estudos epidemiológicos realizados, que demonstram um aumento significativo da incidência da DP, por volta do ano 1918 e inclusive demonstram que pessoas que nasceram durante a gripe espanhola detinham um risco 2 a 3 vezes mais elevado de desenvolver DP do que as pessoas nascidas antes de 1888 ou posteriormente a 1924 (De Chiara *et al.*, 2012; Henry, Smeyne, Jang, Miller, & Okun, 2015; Zhou *et al.*, 2013).

Mais recentemente, Toovey *et al.* conduziu um estudo observacional que tenta associar um diagnóstico prévio de gripe com a DP idiopática ou com os sintomas parkinsónicos, utilizando uma base de dados. Os investigadores concluíram que as infeções com o vírus influenza provocam sequelas neurológicas transitórias e que estão associadas com alguns sintomas parkinsónicos, como o tremor, particularmente no mês após a infeção, mas não com um risco aumentado de desenvolver doença de Parkinson idiopática. Os autores também sugerem que há um aumento do risco para desenvolver sintomas parkinsónicos simultaneamente com um aumento do número de gripes, propondo assim, uma associação cumulativa entre o número de infeções pelo vírus influenza e os danos neuronais (Toovey, Jick, & Meier, 2011).

Outros estudos evidenciaram que o vírus influenza, particularmente o subtipo H1N1 e H5N1 são neurotrópicos e que a estirpe A/WSN/33 do vírus influenza H1N1 é capaz de alcançar a *substantia nigra*, a região cerebral mais afetada na DP (Zhou *et al.*, 2013). Aliado a isto, um estudo realizado por Jang e colaboradores elevou mais ainda as evidências entre esta associação. Estes investigadores, utilizando um modelo animal, mostraram que a estirpe A/Vietman/1203/04 do vírus influenza H5N1 é capaz de alcançar o SNC, através dos nervos periféricos e induzir sintomas parkinsónicos devido à perda de neurónios dopaminérgicos, assim como induzir a ativação microglia e a fosforilação e agregação da proteína α -sinucleína (Jang *et al.*, 2009).

Rohn *et al.* através de dados imuno-histoquímicos mostrou que o vírus Influenza está presente na *substantia nigra pars compacta*, nomeadamente dentro dos grânulos de neuromelanina e em macrófagos (que evidenciam o papel da neuroinflamação na DP) de cérebros *post mortem* de doentes com DP (Rohn & Catlin, 2011).

Apesar de todos os trabalhos de investigação previamente mencionados, a associação entre o vírus influenza e a patogénese da DP, ainda está no campo das hipóteses explicativas da etiologia da doença, uma vez que ainda não foi comprovada a existência de uma correlação direta entre o vírus e a patologia da PD (Henry *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2013).

4.5 Doença de Parkinson e a *Helicobacter pylori*

Uma outra infecção que tem despertado interesse na comunidade científica é a presença crónica gastrointestinal de *Helicobacter pylori* em doentes que padecem de doença de Parkinson. Esta associação remonta aos anos 60, onde num estudo a partir de 200 pacientes com DP, juntamente com 200 pacientes controlo, observou-se uma incidência estatística significativamente mais elevada (15%) de úlceras gastrointestinais em doentes com DP em comparação com os 4% do grupo de controlo (Farooq & Bhatt, 2007). Porém, este aumento da prevalência de úlceras gastrointestinais em pacientes com DP era considerada um elemento independente da doença, que culminava em manifestações gastrointestinais que eram experimentadas por todos os indivíduos que sofriam de DP. Foi, maioritariamente, a partir deste estudo que vários investigadores aprofundaram esta relação e se começou a questionar e a desenvolver a hipótese de que uma infecção por *Helicobacter pylori* pode influenciar ou até mesmo desencadear a patogénese da DP (Camcı & Oguz, 2016).

A *Helicobacter pylori*, também conhecida como *H. pylori* pertence à família Helicobacteraceae e é uma bactéria em forma de espiral, Gram-negativa e com características microaerófilas. Esta bactéria é encontrada essencialmente na superfície da mucosa gástrica e é considerada umas das infeções humanas mais comuns; é estimado que a bactéria está presente em mais de metade da população mundial. A *H. pylori* é capaz de induzir uma inflamação crónica que tende a persistir durante toda a vida e é o principal agente infeccioso causador da patogenia de doenças gástricas, particularmente da gastrite crónica, úlcera péptica e cancro ou linfomas gástricos. Contudo, vários estudos têm associado a *H. pylori* a outras patologias não gástricas, como distúrbios hematológicos, doenças cardiovasculares, doenças dermatológicas e doenças neurodegenerativas, como é o caso da doença de Parkinson (Camcı & Oguz, 2016; Farooq & Bhatt, 2007).

Voltando à relação entre a DP e a infecção por *Helicobacter Pylori*, nos anos subsequentes muitos outros estudos provaram uma prevalência significativa da bactéria em doentes com DP, assim como, estudos imunológicos mostraram que a presença de anticorpos para a *H. pylori* é três a cinco vezes mais comum em doentes que sofrem de DP em comparação com indivíduos saudáveis (Camcı & Oguz, 2016). Os mecanismos neuropatogénicos subjacentes a esta associação ainda não são claros, no entanto a hipótese mais consensual centra-se na teoria neuroinflamatória. Pensa-se que a imunossupressão adquirida devido

à inflamação crônica causada pela *H. pylori* resulta em processo de autoimunidade, que podem contribuir para o desenvolvimento da DP através na degenerescência dos neurónios dopaminérgicos do cérebro (Camcı & Oguz, 2016; Dobbs, Dobbs, & Weller, 2005; Farooq & Bhatt, 2007). É também sugerido que a *H. pylori* pode provocar a apoptose dos neurónios dopaminérgicos da SNpc depois de passar a barreira hematoencefálica, após inalação nasal, ingestão oral ou através de monócitos em circulação (Camcı & Oguz, 2016).

Outros estudos incidiram no possível efeito da *H. pylori* na absorção da levodopa (L-dopa), uma abordagem terapêutica amplamente utilizada no tratamento sintomático da DP e quais as consequências num doente parkinsonico que faz essa mesma terapêutica, tendo em conta que a L-dopa é absorvida na mucosa duodenal e a *H. pylori* é responsável por danificar essa mesma mucosa. Vários estudos concluíram que *H. pylori* influencia a solubilidade devido às alterações de pH e a subsequente absorção e farmacocinética da L-dopa, o que se traduz em consequências graves para os doentes com DP. A erradicação desta bactéria parece aumentar entre 21 a 54% a absorção do fármaco e assim diminuir as manifestações clínicas motoras, como aumentar a qualidade de vida dos doentes (Camcı & Oguz, 2016; Farooq & Bhatt, 2007).

Pierantozzi *et al.* (2006) descobriu que uma infecção *Helicobacter pylori* em doentes que sofrem com PD é capaz de reduzir a absorção de L-dopa e aumentar as manifestações clínicas motoras dos doentes. Este estudo evidenciou também que após a erradicação da *H. pylori*, a curto e a longo prazo, há melhorias significativas nos sintomas parkinsonicos e um aumento da concentração de L-dopa no plasma. Uma pesquisa por Lee *et al.* reafirma esta associação. O estudo objetivava determinar se uma infecção por *Helicobacter Pylori* afeta a resposta clínica à levodopa (ou L-dopa), e se a sua erradicação poderia melhorar a função motora em pacientes com DP. Recorrendo a uma amostra de 65 pacientes com DP e consequentes flutuações motoras, foram comparadas as características clínicas e a resposta à L-dopa entre pacientes não infetados com *Helicobacter Pylori* e pacientes infetados. Entre os pacientes infetados, comparou-se as diferenças de L-dopa em diferentes momentos e concluiu-se que a infecção de *Helicobacter Pylori* poderia interferir com a absorção de L-dopa e provocar flutuações motoras. Os autores também evidenciaram que a erradicação de *Helicobacter Pylori* poderia melhorar o estado clínico, bem como as manifestações motoras de pacientes com a DP (Lee, Yoon, Shin, Jeon, & Rhee, 2008). Mais recentemente, um estudo conduzido

por Hashim e colaboradores comprovou os efeitos da erradicação da *Helicobacter pylori* nos doentes com DP. Para além dos efeitos inerentes à absorção da L-dopa, que já tinham sido referenciados noutros estudos, os autores comprovaram um aumento da qualidade de vida e uma diminuição da gravidade dos sintomas motores, propondo assim que a pesquisa e a subsequente eliminação da *H. pylori* nos doentes com PD é indispensável, nomeadamente nos doentes que não respondem ao tratamento com L-dopa (Hashim *et al.*, 2014).

Tan *et al.* (2015) desenvolveram uma investigação partindo do princípio que alguns estudos sugeriram que a infeção crónica *Helicobacter Pylori* podia agravar o processo neurodegenerativo da DP. Estes investigadores propuseram-se estudar o impacto da infeção *Helicobacter Pylori* nas funções motoras, sintomas gastrointestinais, e qualidade de vida em doentes com DP. Os resultados permitiram concluir que 32,4% dos pacientes com DP eram *Helicobacter Pylori* – positivos, e os pacientes *Helicobacter Pylori* – positivos apresentavam uma idade mais avançada, bem como uma pior função motora. Em suma, defendem que há uma associação entre positividade para *Helicobacter Pylori* e a gravidade da decadência motora na DP associada à idade.

Estes estudos evidenciam algum grau de associação entre a *Helicobacter pylori* e a DP, todavia esta relação não está totalmente comprovada e os mecanismos que levam a *H. pylori* a provocar a neuropatogénese da DP continuam por compreender. Esta bactéria pode até não estar diretamente envolvida na etiologia da DP, mas a sua presença sistémica e crónica desencadeia, provavelmente processos inflamatórios e imunitários que afetam a progressão e/ou o tratamento desta patologia neurodegenerativa (Nicolson & Haier, 2009).

4.6 Esclerose múltipla e o herpesvírus humano 6, vírus Epstein-Barr e o vírus Varicela- Zoster

Como mencionado no capítulo anterior, a esclerose múltipla (EM) é a doença desmielinizante mais comum do SNC. Trata-se de uma doença com uma componente inflamatória e auto-imune, onde o próprio sistema imunitário ataca e destrói a bainha de mielina das células nervosas, formando placas desmielinizantes. Ao ocorrer a desmielinização nos axónios dos neurónios cerebrais e medulares, dá-se uma diminuição ou até mesmo perda total do impulso elétrico, o que resulta num declínio da capacidade dos neurónios comunicarem entre si, levando a deterioração das funções neurológicas e à neurodegenerescência (Compston & Coles, 2002; Julien & Ferrer, 2015).

Apesar de a EM não estar associada às doenças conformacionais, como acontece com outras doenças neurodegenerativas previamente mencionadas, estudos sugerem a possibilidade de determinados agentes infecciosos participarem no seu desenvolvimento em combinação com fatores genéticos e ambientais. Assim, existem evidências de que, entre outros microrganismos, o herpesvírus humano 6 (HHV-6), vírus Epstein-Barr (VEB) e o vírus Varicela- Zoster (VVZ) estão de alguma forma relacionados com a EM (Zhou *et al.*, 2013).

Já há algum tempo que é proposto que o vírus HHV-6 pode estar envolvido na patogénese da EM. Há estudos que reportam a presença de proteínas virais nos oligodendrócitos que se encontram em placas de EM ativas, assim como DNA viral no líquido cefalorraquidiano e um aumento de anticorpos anti-HHV-6 nos doentes com EM. Foi também demonstrada uma correlação entre reativação do HHV-6 e as diferentes formas clínicas de EM, onde se verificou um aumento da presença do vírus, durante o surto episódico em comparação com a fase de remissão. Adicionalmente, estudos evidenciaram um aumento do anticorpo IgM anti-HHV-6 em doentes com a forma clínica de esclerose múltipla surto-remissiva em comparação com as formas progressivas (Zhou *et al.*, 2013).

A relação entre a EM e o VEB também tem sido documentada. Estudos mostram que uma infeção por VEB pode ser um fator de risco para o desenvolvimento desta patologia desmielinizante. Há evidências que indicam que o risco de desenvolver EM aumenta cerca de 10 vezes em indivíduos que contraíram uma infeção por este vírus na infância, que é geralmente assintomática, e até 20 vezes em indivíduos infetados com VEB durante a adolescência, que desenvolveram mononucleose infecciosa quando comparado com

indivíduos controlo. Para além destas evidências epidemiológicas, também são encontrados níveis aumentados de anticorpos IgG anti-EBNA e anti-VCA, em doentes com EM, assim como miRNA não codificante do vírus em cérebros de pacientes que padecem desta doença. O mecanismo inerente a esta associação ainda não está totalmente esclarecido porém, pensa-se que o VEB pode despoletar processos de autoimunidade através da mimetização molecular entre os antígenos do vírus e da mielina ou através da infeção das células B reativas (Ascherio & Munger, 2007; Zhou *et al.*, 2013).

Para além do HHV-6 e do Vírus Epstein Barr também o Vírus varicela- Zoster (VVZ) está relacionado com a EM. Recentemente, Sotelo, Martí, & Ordon (2008) desenvolveram um estudo onde demonstraram a presença de DNA e partículas virais através de microscopia eletrónica e imuno-histoquímica no líquido cefalorraquidiano de doentes com EM. Os investigadores observaram 15 pacientes com EM durante o surto, 19 pacientes com EM durante remissão e 28 indivíduos controlo e verificaram, que a quantidade de partículas virais decaía durante a fase de remissão e era inexistente nos doentes controlo. Através deste estudo é possível constatar que o VVZ, não só pode estar envolvido na patogénese da EM, como também pode estar ligado à progressão da EM, visto que a presença de partículas virais de VVZ, no espaço subaracnoide, foi quase restrita a períodos de exacerbação da doença (surto), bem como a sua descida constante e eventual desaparecimento foi observada na fase de remissão clínica.

4.7 Outros agentes infecciosos e as doenças neurodegenerativas

Para além dos agentes infecciosos supramencionados, foram reportados outros microrganismos que podem igualmente estar envolvidos na patogénese de diferentes doenças neurodegenerativas (**Tabela 2**).

Tabela 2- Outros agentes infecciosos que possivelmente estão envolvidos na patogénese das doenças neurodegenerativas. Adaptado de (De Chiara et al., 2012; Lim et al., 2015; Mattson, 2004; Nicolson & Haier, 2009; Zhou et al., 2013).

Doença Neurodegenerativa	Agentes infecciosos
DA	<i>Helicobacter pylori</i> <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> Citomegalovírus Herpesvírus simples do tipo 1 Vírus Epstein-Barr Herpesvírus humano do tipo 6 <i>Candida glabrata</i> <i>Toxoplasma gondii</i>
DP	<i>Helicobacter pylori</i> Influenza
ELA	Retrovírus Herpesvírus humano do tipo 6 Enterovírus <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Mycoplasma</i>
EM	Retrovírus Vírus Epstein- Barr Herpesvírus humano do tipo 6 Herpesvírus humano do tipo 7 Vírus Varicela-Zoster <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Pseudomonas aeruginosas</i> <i>Mycoplasma</i>

4.8 Possíveis mecanismos envolvidos na neurodegenerescência relacionados com infecções do SNC

Tal como já foi mencionado ao longo desta dissertação, os mecanismos subjacentes à neurodegenerescência, que resultam em doenças neurodegenerativas, ainda não estão totalmente esclarecidos, nomeadamente, o fator desencadeador que leva ao aparecimento destas. Contudo, é conhecido que determinados processos como o *misfolding* de proteínas e a sua consequente deposição amilóide no cérebro, o *stress* oxidativo e a excessiva produção de ROS e RNS, a disfunção mitocondrial e sináptica, as alterações no sistema autofágico e a neuroinflamação têm um papel crítico e estão envolvidos na patogénese das diversas doenças neurodegenerativas (De Chiara *et al.*, 2012).

A relação entre a progressão das doenças neurodegenerativas ou a hipótese de que a etiologia destas doenças poderá ter uma origem infecciosa ainda não está comprovada. No entanto, há cada vez mais estudos a relacionarem infeções no SNC com doenças neurodegenerativas. Para além das evidências epidemiológicas começam a emergir evidências experimentais de que determinados agentes infecciosos poderão estar envolvidos nos processos de neurodegenerescência (Nicolson & Haier, 2009).

Os subcapítulos anteriores relatam as evidências epidemiológicas, histo-imunológicas, bioquímicas e genéticas, que relacionam as infeções com as doenças neurodegenerativas. É proposto que os agentes infecciosos podem interferir diretamente nos processos neurodegenerativos. Tal como já foi supramencionado, os microrganismos infecciosos podem ter um papel importante no processo de síntese e/ou degradação de proteínas anómalas, no caso da DA trata-se do péptido β -amilóide e da proteína tau e no caso da DP da proteína α -sinucleína, e na sua consequente acumulação e deposição em placas neuríticas e entrançados neurofibrilares ou inclusões de Lewy, respetivamente. Além disso, também parecem estar envolvidos em processos de desregulação e disfunção metabólica. Sabe-se que os processos metabólicos estão intimamente ligados ao processo de envelhecimento e às doenças neurodegenerativas e, tem sido demonstrado que determinados agentes infecciosos podem contribuir para a desregulação e disfunção da via metabólica. A invasão de agentes infecciosos no SNC é capaz de promover a produção exacerbada de espécies reativas de oxigénio e azoto, uma interferência no metabolismo lipídico e na glicólise, manipular a expressão de determinados genes que levam à inibição de processos celular do hospedeiro, como a síntese de RNA e proteínas essenciais, assim como, levar à disfunção mitocondrial em particular, devido à interferência no processo

de fosforilação oxidativa e consequente interferência na síntese de ATP. Há evidências que certos microrganismos, como por exemplo, a HSV-1 e o vírus influenza podem induzir um estado pró-oxidante nas células do hospedeiro, através da depleção de GSH (o maior antioxidante endógeno), produção excessiva de ROS e indução de *stress* no retículo endoplasmático. Estudos realizados em neurónios infetados com HSV-1 e influenza de modelos animais verificaram um aumento substancial dos níveis de ROS, de lípidos peroxidados e de proteínas nitrosiladas. Infecções por *C. pneumoniae* parecem inibir o processo apoptótico de diversas células como, neutrófilos, monócitos, células epiteliais e neurónios. Todos estes processos parecem estar relacionados com a disfunção sináptica e perda neuronal e podem despoletar o desenvolvimento de diversas doenças neurodegenerativas (De Chiara *et al.*, 2012; Limongi & Baldelli, 2016; Zhou *et al.*, 2013).

No entanto, de acordo com a literatura, a hipótese mais consensual que tenta explicar o mecanismo subjacente às doenças neurodegenerativas, que inclui infecções no SNC, é o mecanismo neuroinflamatório (Amor *et al.*, 2014; Campbell, 2004; Chen *et al.*, 2016; Dahm *et al.*, 2016; Deleidi & Isacson, 2012; Fung, Vizcaychipi, Lloyd, Wan, & Ma, 2012; González, Elgueta, Montoya, & Pacheco, 2014; Limongi & Baldelli, 2016; Perry, 2004; Perry, Newman, & Cunningham, 2003; Zhou *et al.*, 2013). Cada vez são mais, as evidências que as vias inflamatórias e imunológicas estão presentes nas diversas doenças neurodegenerativas e recentemente, as infecções neurotrópicas foram associadas a estas vias (Amor *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2016; Dahm *et al.*, 2016; Deleidi & Isacson, 2012). É proposto que após a entrada de agentes infecciosos no SNC, através de mecanismos neuroinvasores, já aqui explicados, estes detêm a capacidade de desencadear uma resposta imunitária inata que envolve um processo inflamatório. Esta resposta do sistema imune, normalmente desempenha uma função benéfica e é responsável por inúmeros processos neuroprotectores, contudo quando é induzida por um estímulo crónico, como é o caso de uma infecção latente no SNC, esta resposta é prejudicial e pode levar à progressão da degenerescência neuronal (Chen *et al.*, 2016; González *et al.*, 2014). As células da glia (microglia, astrócitos e oligodendrócitos) são a primeira linha de defesa do sistema imunitário no SNC. Quando o SNC é invadido por microrganismos, estas células, nomeadamente a microglia, é ativada devido à presença de recetores do tipo toll (TLRs) na sua membrana que reconhecem, por exemplo, proteínas ou ácidos nucleicos patogénicos, também conhecidos por PAMPS (do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*). Através destas vias de sinalização, a microglia ativada vai por sua vez ativar o

fator NF- κ B (fator nuclear kappa B) que é responsável pela regulação da expressão dos mediadores inflamatórios. Dá-se assim início a uma resposta inflamatória, onde são sintetizados mediadores pro-inflamatórios que compreendem citocinas como a IL-1 β , IL-6 e TNF- α , IFNs e quimiocinas (**Figura 8**). Estes mediadores atuam de forma a eliminar o antígeno, no entanto, quando a ativação é crônica, há uma desregulação das células da glia e estas não param de produzir tanto mediadores pro-inflamatórios como espécies reativas de oxigênio, conduzindo à neurotoxicidade que pode resultar no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (Amor *et al.*, 2014; Campbell, 2004; Chen *et al.*, 2016; Dahm *et al.*, 2016; Deleidi & Isacson, 2012; González *et al.*, 2014; Limongi & Baldelli, 2016).

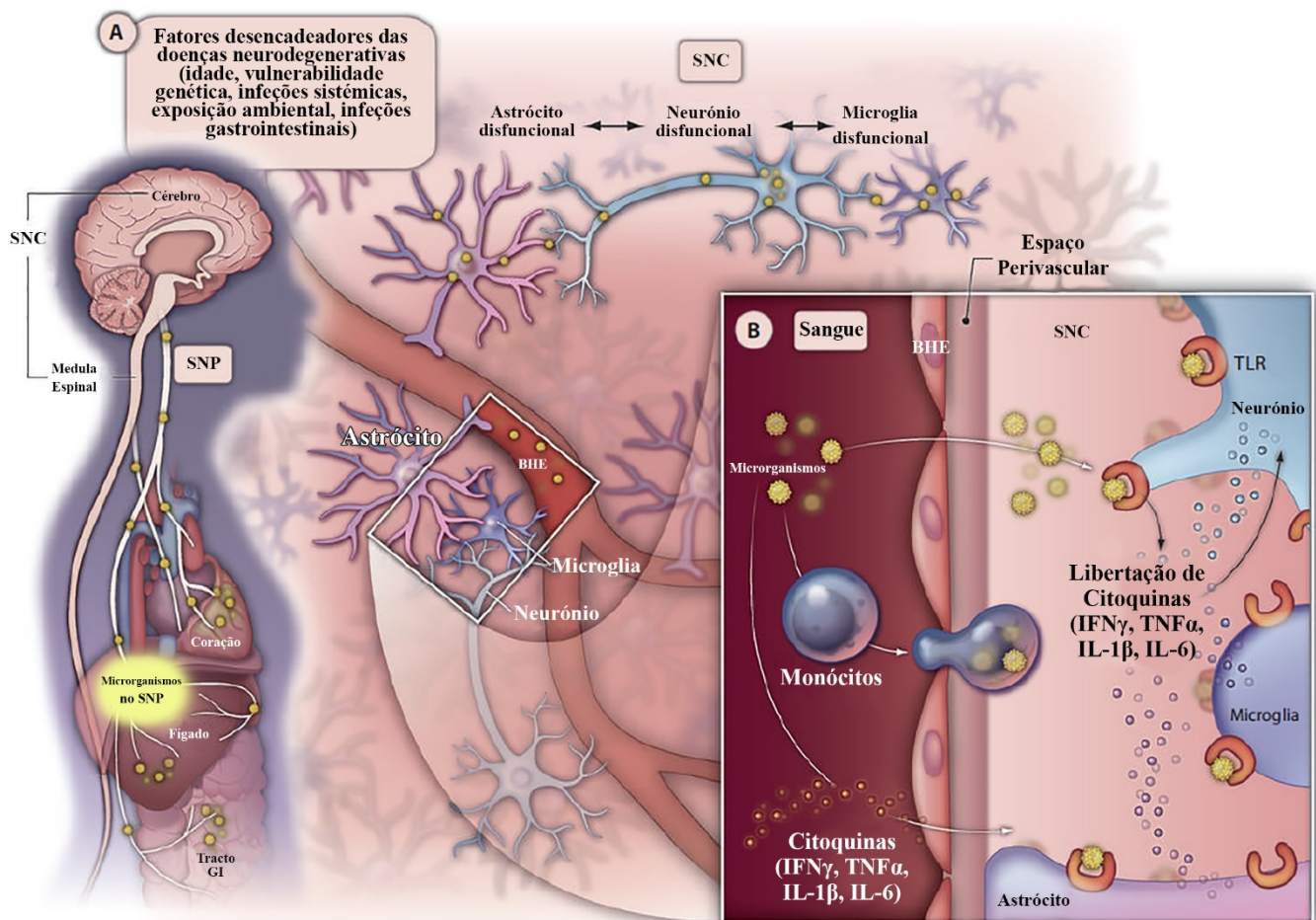


Figura 8- Mecanismo neuroinflamatório mediado por microrganismos infecciosos. (A) Fatores desencadeadores das doenças neurodegenerativas. **(B)** Neuroinvasão e neuroinflamação mediada por agentes infecciosos. Adaptado de (Deleidi & Isacson, 2012).

Conclusão

As doenças neurodegenerativas têm um impacto devastador na saúde e na sociedade, não existindo para as quais uma cura. A sua crescente prevalência e incidência a nível mundial é assustadora, sendo por isso, consideradas umas das maiores preocupações atuais da comunidade científica, assim como da sociedade, em geral.

Apesar de todos os esforços efetuados para combater esta problemática, a etiologia subjacente a estas doenças continua pouco clarificada, tal como os mecanismos neuropatológicos que levam ao desenvolvimento destas.

Recentemente, os dados que surgem da investigação científica nesta área, sugerem a existência de um envolvimento, direto ou indireto, de inúmeras infeções na patogénese e/ou progressão dos processos de neurodegenerescência. Apesar desta associação ainda não estar comprovada e estar longe de ser conclusiva, há evidências que determinados agentes infecciosos detêm a capacidade de invadir o SNC e através da sua continuada replicação ou reativação são capazes de provocar marcas patogénicas típicas das doenças neurodegenerativas; marcas essas que incluem a produção de proteínas anómalas e consequente agregação amilóide, *stress* oxidativo e produção exacerbada de ROS e RNS, excitotoxicidade, neuroinflamação, alterações no mecanismo autofágico e apoptótico que culminam na modificação da viabilidade neuronal. Com base nestas evidências e em alguns estudos epidemiológicos e histopatológicos que co-localizam os microrganismos na mesma região onde ocorre a neurodegenerescência, os investigadores acreditam que as infeções podem contribuir para este processo. A hipótese mais plausível compreende que determinados agentes infecciosos ao alcançarem o SNC desencadeiam uma série de eventos neurotóxicos que são cumulativos ao longo do tempo e com o avanço da idade concomitantemente com outros fatores, sejam eles alterações genéticas ou outros fatores de risco ambientais, são capazes de amplificar e acelerar o processo neurodegenerativo. No entanto, esta associação ainda é suportada maioritariamente por dados experimentais baseados em modelos animais pelo que, a relação entre as infeções do SNC e as doenças neurodegenerativas não está totalmente comprovada nos seres humanos.

Neste sentido, numa perspetiva futura é necessário continuar a investigar intensamente esta temática que aponta para uma etiologia infecciosa das doenças neurodegenerativas.

Na verdade, a presença de determinados agentes infecciosos deverá ter sido em conta como um possível fator de risco para o desenvolvimento destas patologias. A compreensão mais aprofundada dos mecanismos moleculares que conduzem à neurodegenerescência mediados por microrganismos, poderá originar uma revolução no campo das doenças neurodegenerativas, através do desenvolvimento de novas estratégias preventivas e/ou terapêuticas.

Referências Bibliográficas

- Abreu, P., Mendonça, M. T., Guimarães, J., & Sá, M. J. (2012). Esclerose Múltipla: epidemiologia, etiopatogenia, fisiopatologia e diagnóstico diferencial. *Sociedade Portuguesa de Neurologia*, 12, 5–14.
- Alves, L., Correia, A. S. A., Miguel, R., Alegria, P., & Bugalho, P. (2012). Alzheimer's disease: A clinical practice-oriented review. *Frontiers in Neurology*, APR(April), 1–20. <http://doi.org/10.3389/fneur.2012.00063>
- Alzheimer Association. (2015). 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*, 11(3), 332–384. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.02.003>
- Amor, S., Peferoen, L. A. N., Vogel, D. Y. S., Breur, M., van der Valk, P., Baker, D., & Van Noort, J. M. (2014). Inflammation in neurodegenerative diseases - an update. *Immunology*, 142(2), 151–166. <http://doi.org/10.1111/imm.12233>
- Andersen, J. K. (2004). Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nature Medicine*, 10 Suppl(July), S18–S25. <http://doi.org/10.1038/nrn1434>
- Ascherio, A., & Munger, K. L. (2007). Environmental Risk Factors for Multiple Sclerosis . Part I : The Role of Infection, 1–3. <http://doi.org/10.1002/ana.21117>
- Associação Alzheimer Portugal. (2009). Plano Nacional de Intervenção Alzheimer: Trabalho preparatório para a conferência “Doença de Alzheimer: Que Políticas,” 28.
- Balin, B. J., Gérard, H. C., Arking, E. J., Appelt, D. M., Branigan, P. J., Whittum-hudson, J. T. A. J. A., & Hudson, A. P. (1998). Identification and localization of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer ' s brain, 23–42.
- Balin, B. J., Little, C. S., Hammond, C. J., Appelt, D. M., Whittum-Hudson, J. a, Gerard, H. C., & Hudson, a P. (2008). Chlamydophila pneumoniae and the etiology of late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 13(4), 371–380. Disponível em http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18487846
- Bettcher, B. M., & Kramer, J. H. (2013). Inflammation and clinical presentation in neurodegenerative disease: a volatile relationship. *Neurocase*, 19(2), 182–200. <http://doi.org/10.1080/13554794.2011.654227>
- Brunden, K. R., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2009). Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies, 8, 783–793. <http://doi.org/10.1038/nrd2959>
- Camcı, G., & Oguz, S. (2016). Association between Parkinson's Disease and Helicobacter Pylori, 12, 147–150.

- Campbell, A. (2004). Inflammation, neurodegenerative diseases, and environmental exposures. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1035(July), 117–132. <http://doi.org/10.1196/annals.1332.008>
- Cancela, D. M. G. (2008). O processo de envelhecimento. *Dissertação de Licenciatura, Universidade Lusíada Do Porto, Porto, Portugal*, 1–15. <http://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00031>
- Castellani, R. J., & Perry, G. (2012). Pathogenesis and Disease-modifying Therapy in Alzheimer's Disease: The Flat Line of Progress. *Archives of Medical Research*, 43(8), 694–698. <http://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.09.009>
- Chen, W. W., Zhang, X., & Huang, W. J. (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3391–3396. <http://doi.org/10.3892/mmr.2016.4948>
- Chin-Chan, M., Navarro-Yepes, J., & Quintanilla-Vega, B. (2015). Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(April), 124. <http://doi.org/10.3389/fncel.2015.00124>
- Chiti, F., & Dobson, C. M. (2006). Protein Misfolding, Functional Amyloid, and Human Disease. *Annual Review of Biochemistry*, 75(1), 333–366. <http://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.101304.123901>
- Compston, A., & Coles, A. (2002). Multiple sclerosis. *The Lancet*, 359(9313), 1221–1231. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08220-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08220-X)
- Cribbs, D. H., Azizeh, B. Y., Cotman, C. W., & LaFerla, F. M. (2000). Fibril formation and neurotoxicity by a herpes simplex virus glycoprotein B fragment with homology to the Alzheimer's A beta peptide. *Biochemistry*, 39, 5988–5994. <http://doi.org/bi000029f> [pii]
- Dahm, T. A.-O., Rudolph, H. A.-O., Schwerk, C. A.-O., Schrotten, H., Tenenbaum, T. A.-O., & Mediators, I. (2016). Neuroinvasion and Inflammation in Viral Central Nervous System Infections, 2016(1466–1861 (Electronic)).
- Dando, S. J., Mackay-Sim, A., Norton, R., Currie, B. J., St. John, J. A., Ekberg, J. A. K., ... Beacham, I. R. (2014). Pathogens penetrating the central nervous system: Infection pathways and the cellular and molecular mechanisms of invasion. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 691–726. <http://doi.org/10.1128/CMR.00118-13>
- De Chiara, G., Marcocci, M. E., Sgarbanti, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Piacentini, R., ... Palamara, A. T. (2012). Infectious agents and neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, 46(3), 614–638. <http://doi.org/10.1007/s12035-012-8320-7>
- Deleidi, M., & Isacson, O. (2012). Viral and inflammatory triggers of neurodegenerative diseases. *Science Translational Medicine*, 4(121), 121ps3. <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003492>

- Dobbs, R., Dobbs, S., & Weller, C. (2005). Role of Chronic Infection and Inflammation in the Gastrointestinal Tract in the Etiology and Pathogenesis of idiopathic Parkinsonism. *Helicobacter*, 10(4), 267–275. Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1523-5378.2005.00331.x/full>
- Dubois, B., Feldman, H., & Scheltens, P. (2007). A New Concept and New Criteria for Alzheimer ' s Disease, 53–54. <http://doi.org/10.17925/ENR.2007.00.02.53>
- Engelhardt, E. (2012). Aspectos da fisiopatologia da doença de Alzheimer esporádica Pathophysiological features of sporadic Alzheimer ' s disease. *Rev Bras Neurol*, 48(4), 21–29. Disponível em <http://files.bvs.br/upload/S/0101-8469/2012/v48n4/a3349.pdf>
- Farooq, M., & Bhatt, A. (2007). Helicobacter pylori : Neurological and Ophthalmological Disorders, 9(2), 1–6.
- Fonslow, B. R., Stein, B. D., Webb, K. J., Xu, T., Choi, J., Kyu, S., & Iii, J. R. Y. (2013). NIH Public Access, 10(1), 54–56. <http://doi.org/10.1038/nmeth.2250.Digestion>
- Fundação Calouste Gulbenkian. (2015). O Cérebro E As Doenças Neurodegenerativas, 1–30.
- Fung, A., Vizcaychipi, M., Lloyd, D., Wan, Y., & Ma, D. (2012). Central nervous system inflammation in disease related conditions: Mechanistic prospects. *Brain Research*, 1446, 144–155. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.01.061>
- Gandhi, S., & Abramov, A. Y. (2012). Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012. <http://doi.org/10.1155/2012/428010>
- Garrigue, I., Barberger-gateau, P., Letenneur, L., Pe, K., Helmer, C., Orgogozo, J., & Gauthier, S. (2008). Seropositivity to Herpes Simplex Virus Antibodies and Risk of Alzheimer ' s Disease : A Population-Based Cohort Study, 3(11), 1–5. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0003637>
- Gonçalves, S. A., & Outeiro, T. F. (2015). A disfunção cognitiva nas doenças neurodegenerativas, 256–267.
- González, H., Elgueta, D., Montoya, A., & Pacheco, R. (2014). Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *Journal of Neuroimmunology*, 274(1–2), 1–13. <http://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.07.012>
- Hammond, C. J., Hallock, L. R., Howanski, R. J., Appelt, D. M., Little, C. S., & Balin, B. J. (2010). Immunohistological detection of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer ' s disease brain, 1–12.

- Hashim, H., Azmin, S., Razlan, H., Yahya, N. W., Tan, H. J., Rizal, M., ... Ibrahim, N. M. (2014). Eradication of *Helicobacter pylori* Infection Improves Levodopa Action , Clinical Symptoms and Quality of Life in Patients with Parkinson ' s Disease, 9(11). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0112330>
- Henry, J., Smeyne, R., Jang, H., Miller, B., & Okun, M. (2015). Parkinsonism and Neurological Manifestations of Influenza Throughout the 20th and 21st Centuries, 16(9), 566–571. <http://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.06.012>. Parkinsonism
- Huang, Y., Chan, P., & Halliday, G. (2007). Genetics of Parkinson's disease. *Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders*, 663–697. <http://doi.org/10.1016/B978-044452809-4/50169-1>
- Hung, C. W., Chen, Y. C., Hsieh, W. L., Chiou, S. H., & Kao, C. L. (2010). Ageing and neurodegenerative diseases. *Ageing Research Reviews*, 9(SUPPL.), S36–S46. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2010.08.006>
- Hussain, A., Bashir, K., Anees, S., Afzal, M., Masood, A., Ahmad, M., & Ahmad, S. (2015). Oxidative stress , mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases ; a mechanistic insight, 74, 101–110. <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.07.025>
- Iqbal, K., Liu, F., Gong, C.-X., & Grundke-Iqbal, I. (2010). Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Current Alzheimer Research*, 7(8), 656–664. <http://doi.org/10.2174/156720510793611592>
- Itzhaki, R. F. (2014). Herpes simplex virus type 1 and Alzheimer's disease: Increasing evidence for a major role of the virus. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6(AUG), 1–9. <http://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00202>
- Itzhaki, R. F., Lin, W.-R., Shang, D., Wilcock, G. K., Faragher, B., & Jamieson, G. A. (1997). Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*, 349(9047), 241–244. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)10149-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)10149-5)
- Itzhaki, R. F., Wozniak, M. A., Appelt, D. M., & Balin, B. J. (2004). Infiltration of the brain by pathogens causes Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 25(5), 619–627. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2003.12.021>
- Jang, H., Boltz, D., Sturm-ramirez, K., Shepherd, K. R., Jiao, Y., Webster, R., & Smeyne, R. J. (2009). Highly pathogenic H5N1 influenza virus can enter the central nervous system and induce neuroinflammation and neurodegeneration, 106(33).
- Julien, J., & Ferrer, X. (2015). Multiple sclerosis: an overview. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 43(5), 335–346. [http://doi.org/10.1016/0753-3322\(89\)90059-0](http://doi.org/10.1016/0753-3322(89)90059-0)
- Kalia, L. V., Lang, A. E., & Shulman, G. (2015). Parkinson ' s disease. *The Lancet*, 386(9996), 896–912. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)

- Karch, C. M., & Goate, A. M. (2015). Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biological Psychiatry*, 77(1), 43–51. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.05.006>
- Kim, Y., Kim, Y., Hwang, O., & Kim, D. J. (2012). Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Brain Damage - Bridging Between Basic Research and Clinics*, 111–120. <http://doi.org/10.5772/2174>
- Kristensson, K. (2011). Microbes' roadmap to neurons. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(6), 345–357. <http://doi.org/10.1038/nrn3029>
- Kumar, A., Singh, A., & Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update. *Pharmacological Reports*, 67(2), 195–203. <http://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.09.004>
- Lee, W. Y., Yoon, W. T., Shin, H. Y., Jeon, S. H., & Rhee, P. (2008). Helicobacter Pylori Infection and Motor Fluctuations in Patients with Parkinson ' s Disease, 23(12), 1696–1700. <http://doi.org/10.1002/mds.22190>
- Lim, S. L., Rodriguez-Ortiz, C. J., & Kitazawa, M. (2015). Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. *Microbes and Infection*, 17(8), 549–556. <http://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.04.004>
- Lima, R. R., Costa, A. M. R., De souza, R. D., & Gomes-Leal, W. (2007). Inflamação em doenças neurodegenerativas. *Medicina*, 21(2), 29–34.
- Limongi, D., & Baldelli, S. (2016). Redox Imbalance and Viral Infections in Neurodegenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 6547248. <http://doi.org/10.1155/2016/6547248>
- Little, C. S., Hammond, C. J., Macintyre, A., Balin, B. J., & Appelt, D. M. (2004). Chlamydia pneumoniae induces Alzheimer-like amyloid plaques in brains of BALB / c mice, 25, 419–429. [http://doi.org/10.1016/S0197-4580\(03\)00127-1](http://doi.org/10.1016/S0197-4580(03)00127-1)
- Massano, J. (2011). [Parkinson's disease: a clinical update]. *Acta Médica Portuguesa*, 24 Suppl 4, 827–34. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22863490>
- Mattson, M. P. (2004). Infectious agents and age-related neurodegenerative disorders. *Ageing Research Reviews*, 3(1), 105–120. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2003.08.005>
- McGavern, D. B., & Kang, S. S. (2011). Illuminating viral infections in the nervous system. *Nature Reviews Immunology*, 11(5), 318–329. <http://doi.org/10.1038/nri2971>
- Melrose, J., Perroy, R., & Careas, S. (2015). Manual para pessoas com Parkinson, 1. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Migliore, L., & Coppedè, F. (2009). Genetics, environmental factors and the emerging role of epigenetics in neurodegenerative diseases. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 667(1–2), 82–97. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.10.011>
- Milo, R., & Miller, A. (2014). Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis. *Autoimmunity Reviews*, 13(4–5), 518–524. <http://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.012>
- Montine, T. J., Phelps, C. H., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Dickson, D. W., ... Hyman, B. T. (2012). National institute on aging-Alzheimer's association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: A practical approach. *Acta Neuropathologica*, 123(1), 1–11. <http://doi.org/10.1007/s00401-011-0910-3>
- Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177. <http://doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>
- Nicolson, G. L., & Haier, J. (2009). Role of Chronic Bacterial and a nd Viral Infections in Neurodegenerative, Neurobehavioral, Psychiatric, Autoimmune and Fatiguing Illnesses: Part 1. *British Journal of Medical Practitioners*, 2(4), 20–28.
- Parlamento Europeu. (2010). Relatório sobre a iniciativa europeia em matéria de doença de Alzheimer e outras formas de demência (2010/2084(INI)), 2084.
- Perry, V. H. (2004). The influence of systemic inflammation on inflammation in the brain: Implications for chronic neurodegenerative disease. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18(5), 407–413. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2004.01.004>
- Perry, V. H., Newman, T. a, & Cunningham, C. (2003). The impact of systemic infection on the progression of neurodegenerative disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, 4(2), 103–112. <http://doi.org/10.1038/nrn1032>
- Piacentini, R., Chiara, G. De, Domenica, D. L. P., Ripoli, C., Marcocci, M. E., Garaci, E., ... Grassi, C. (2014). HSV-1 and Alzheimer's disease: More than a hypothesis. *Frontiers in Pharmacology*, 5 MAY(May), 1–9. <http://doi.org/10.3389/fphar.2014.00097>
- Pierantozzi, M., Pietroiusti, A., Brusa, L., Galati, S., Stefani, A., & Lunardi, G. (2006). Helicobacter pylori eradication and L -dopa absorption in patients with PD and motor fluctuations.
- Pinto, L. D. (2010). Estudo de complexos de cobre(II) com aminoácidos de interesse para a química do cérebro, 1–25.
- Przedborski, S., Vila, M., & Jackson-lewis, V. (2003). Neurodegeneration : What is it and where are we ? *J. Clin. Invest.*, 111(1), 3–10. <http://doi.org/10.1172/JCI200317522>

- quoc Lương, K. vinh. (2013). Environmental Factors in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 3(2). <http://doi.org/10.4172/2161-0460.1000119>
- Reitz, C., & Mayeux, R. (2014). Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), 640–651. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.12.024>
- Ring, R. H., & Lyons, J. M. (2000). Failure To Detect Chlamydia pneumoniae in the Late-Onset Alzheimer ' s Brain, 38(7), 2591–2594.
- Rocha, N. P., Martins, L., Teixeira, A. L., & Reis, H. J. (2011). Processo inflamatório e neuroimunomodulação na Doença de Alzheimer: Revisão de literatura. *Revista Neurociencias*, 19(2), 300–313.
- Rogers, K. (2011). *The Brain and The Nervous System*. Britannica Educational Publishing.
- Rohn, T. T., & Catlin, L. W. (2011). Immunolocalization of Influenza A Virus and Markers of Inflammation in the Human Parkinson ' s Disease Brain, 6(5). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0020495>
- Rommel Almeida Fechine, B. (2012). O Processo De Envelhecimento: As Principais Alterações Que Acontecem Com O Idoso Com O Passar Dos Anos. *Inter Science Place*, 1(20), 106–132. <http://doi.org/10.6020/1679-9844/2007>
- Ross, C. A., & Poirier, M. A. (2004). Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med*, 10 Suppl(July), S10--S17. <http://doi.org/10.1038/nm1066>
- Sá, M. J. (2012). Physiopathology of symptoms and signs in multiple sclerosis. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 70(9), 733–40. <http://doi.org/10.1590/S0004-282X2012000900016>
- Saadallah, D. K. F. (2013). Role of Oxidative Stress in the pathogenesis of neurodegenerative disorders, 1–163.
- Salinas, S., Schiavo, G., & Kremer, E. J. (2010). A hitchhiker's guide to the nervous system: the complex journey of viruses and toxins. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(9), 645–655. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2395>
- Santana, I., Farinha, F., Freitas, S., Rodrigues, V., & Carvalho, Á. (2015). Epidemiologia da Demência e da Doença de Alzheimer em Portugal : Estimativas da Prevalência e dos Encargos Financeiros com a Medicação. *Acta Medica Portuguesa*, 28(2), 182–189. <http://doi.org/0870-399X>
- Santos, T. G. dos. (2015). Protein Misfolding and Propagation in Neurodegenerative Diseases, 144–175.
- Scialfa, C. T., & Fernie, G. R. (2006). Handbook of the Psychology of Aging. *Handbook of the Psychology of Aging*. <http://doi.org/10.1016/B978-012101264-9/50022-7>

- Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer ' s Disease : Genes , Proteins , and Therapy, *81*(2), 741–766. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2010.03830.x>
- Soscia, S. J., Kirby, J. E., Washicosky, K. J., Tucker, S. M., Ingelsson, M., Hyman, B., ... Robert, D. (2010). The Alzheimer ' s Disease-Associated Amyloid b -Protein Is an Antimicrobial Peptide, *5*(3), 1–10. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0009505>
- Sotelo, J., Martí, A., & Ordon, G. (2008). Varicella-Zoster Virus in Cerebrospinal Fluid at Relapses of Multiple Sclerosis, 303–311. <http://doi.org/10.1002/ana.21316>
- Souza, C. F. M., Almeida, H. C. P., Sousa, J. B., Costa, P. H., Silveira, Y. S. S., & Bezerra, J. C. L. (2011). A doença de parkinson e o processo de envelhecimento motor: Uma revisão de literatura. *Revista Neurociencias*, *19*(4), 718–723.
- Taipa, R., Pinho, J., & Melo-Pires, M. (2012). Clinico-pathological correlations of the most common neurodegenerative dementias. *Frontiers in Neurology*, *MAY*(May), 1–13. <http://doi.org/10.3389/fneur.2012.00068>
- Takalo, M., Salminen, A., Soininen, H., Hiltunen, M., & Haapasalo, A. (2013). Protein aggregation and degradation mechanisms in neurodegenerative diseases. *American Journal of Neurodegenerative Disease*, *2*(1), 1–14. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3601466&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Tan, Huey, A., Mahadeva, S., Marras, C., Malik, A., Khang, C., Ming, C., ... Lim, S. (2015). Parkinsonism and Related Disorders Helicobacter pylori infection is associated with worse severity of Parkinson ' s disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, *21*(3), 221–225. <http://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2014.12.009>
- Teixeira, J., Feio, M., & Figueira, M. L. (2014). O Papel do Stress Oxidativo no Envelhecimento e na Demência. *Psilogos*, *12*(1), 43–57. Disponível em <http://revistas.rcaap.pt/psilogos/article/view/6313>
- Toovey, S., Jick, S. S., & Meier, C. R. (2011). Parkinson ' s disease or Parkinson symptoms following seasonal influenza, 328–333. <http://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2011.00232.x>
- Werneck, A. L. S. (2010). Doença de Parkinson: Etiopatogenia , Clínica e Terapêutica. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto*, 10–19.
- Wirdefeldt, K., Adami, H., Cole, P., Trichopoulos, D., & Mandel, J. (2011). Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European Journal of Epidemiology, Suppl. Supplement*, *26*, S1-58. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/s10654-011-9581-6>
- World Health Organization. (2012). Dementia: a public health priority. *Dementia*, 112. http://doi.org/978_92_4_156445_8
- World Health Organization. (2013). Influenza virus infections in humans, (July), 1–2.

- Wozniak, M. A., Frost, A. L., & Itzhaki, R. F. (2009). Alzheimer ' s Disease-Specific Tau Phosphorylation is Induced by Herpes Simplex Virus Type 1, *16*, 341–350. <http://doi.org/10.3233/JAD-2009-0963>
- Wozniak, M. A., Itzhaki, R. F., Shipley, S. J., & Dobson, C. B. (2007). Herpes simplex virus infection causes cellular α -amyloid accumulation and secretase upregulation. *Neuroscience Letters*, *429*(2–3), 95–100. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.09.077>
- Zhou, L., Miranda-Saksena, M., & Saksena, N. K. (2013). Viruses and neurodegeneration. *Virology Journal*, *10*(1), 1. <http://doi.org/10.1186/1743-422X-10-172>

